

III.

Die Anwendung der physikalisch-chemischen Methoden in der Physiologie

von

Leon Asher in Bern.

(Mit 42 Figuren.)

Teil I. Das Aufsammeln der Körperflüssigkeiten.

1. Allgemeines.

Die Mehrzahl der in der Physiologie angewandten Methoden der physikalischen Chemie sind solche, welche zu Untersuchungen an Flüssigkeiten dienen. Die erste Aufgabe besteht daher in dem geeigneten Aufsammeln der einzelnen Körperflüssigkeiten. Dieselbe soll so geschehen, daß möglichst eine Veränderung ihres natürlichen Zustandes vermieden wird. Am einfachsten liegen die Verhältnisse bei den verschiedenen Sekreten. Die operativen Methoden zu deren Gewinnung gehören meist in das Gebiet der „physiologischen Chirurgie“ und werden daher in einem anderen Abschnitte dieses Werkes besprochen. Die nicht operativen Methoden bedürfen an dieser Stelle auch keiner Beschreibung. Das Aufsammeln der operativ oder nicht operativ gewonnenen Sekrete, Exkrete und Transsudate des Körpers geschieht entweder in graduirten Zylindern und Meßkölbchen oder in abgewogenen Gefäßen. Für sehr viele Zwecke reicht man mit der gewöhnlich zu chemischen und physikalischen Untersuchungen erforderlichen Reinigung und Trocknung der Gefäße aus. Es kann aber der Fall eintreten, daß von vornherein die für besondere physikalische chemische Untersuchungen nötige Vorbereitung der Gefäße ratsam ist, z. B. wenn Bestimmungen der elektrischen Leitfähigkeit oder der Reaktionsgeschwindigkeit beabsichtigt werden.

Reinigung der Gefäße: Zuerst werden die Gefäße mit einer warmen oder auch heißen (je nach der Glasdicke) Lösung von Kaliumbichromat in konzentrierter Schwefelsäure ausgespült, sodann mit fettfreiem destillierten Wasser. Hierauf werden die Gefäße nach dem Verfahren von Abegg ausgedämpft (Fig. 1).

Ein mit Wasser gefüllter Kochkolben wird mit einem durchbohrten Stopfen verschlossen, durch welchen ein größerer Trichter durchgesteckt wird. In den Stiel des Trichters wird ein Stück Kautschukrohr eingesetzt, welches dazu dient, ein längeres Glasrohr festzuhalten. Das Glasrohr rage

über den Trichter hinaus und münde in dem Hals des Kochkolbens. Auf das obere Ende des Glasrohres wird der auszudämpfende Kolben aufgestülpt. Das Wasser im Kochkolben wird stark gekocht, der Dampfstrahl entweicht durch die Glasröhre und entfernt das lösliche Alkali des Kälbchens. Bei Messungen, welche größte Genauigkeit erfordern, verschließt man die Gefäße nicht mit Kork oder Kautschuk, sondern mit Glasstöpsel oder mit einem umgestülpten Glas.

Bei dem Aufsammeln von Sekreten aus operativ angelegten Fisteln ist darauf zu achten, daß nicht eine Verunreinigung durch Blut hinzukommt. Bei gewissen Fisteln kann im Verlaufe der Entnahme der ausfließenden Flüssigkeit spontan Blut der letzteren sich beimengen. Beispielsweise geschieht dies häufig beim Auffangen von Harn aus dem Ureter des Kaninchens und bei Lymphfisteln am Hunde. Ist man in der Wahl des Versuchstieres daher nicht durch äußere oder innere Rücksichten auf ein bestimmtes Tier angewiesen, so wird für gewisse physikalisch-chemische Messungen des Harns aus Ureterenfisteln der Hund als Versuchstier vorzuziehen sein. Im übrigen gelte als Regel bei Blutbeimengung zu physiologischen Sekreten und anderen Körperflüssigkeiten, die sonst blutfrei sind, lieber auf Untersuchungen wie diejenige der Gefrierpunktserniedrigung, der Leitfähigkeit und der Refraktion zu verzichten.

Bei Untersuchungen, die den Magen und den Darm betreffen, muß, genau wie bei anderen physiologischen Untersuchungen, scharf unterschieden werden zwischen Magen und Darminhalt einerseits und den einzelnen reinen Verdauungssäften andererseits. Es muß in dieser Hinsicht auf die Methoden der physiologischen Chirurgie verwiesen werden.

Behufs Untersuchung des Schweißes zu physikalisch-chemischen Zwecken wird für gewöhnlich nur die Katze oder der Mensch in Betracht kommen, eventuell das Pferd. Bei der Katze erhält man aus dem vorher gut gereinigten Fußballen entweder durch Reizung des Nervus ischiadicus oder durch Pilokarpin Tropfen von Schweiß, die in einem Glasschälchen aufgefangen werden können. Das Aufsammeln menschlichen Schweißes gehört den Methoden des Stoffwechsels an.

Das Sammeln der Milch zu physikalisch-chemischen Untersuchungen erfordert einige Vorsicht. Für die physikalisch-chemische Beschaffenheit der Milch ist die Art und die Zeit des Melkens nicht gleichgültig. Daher muß die etwa von Kühen oder Ziegen stammende Milch entweder von sehr zuverlässiger Seite bezogen werden, oder der Untersucher muß selbst beim Melken zugegen sein. Ferner bestehen Unterschiede zwischen Vollmilch und Magermilch.

Die in der Norm nur in geringen Mengen vorkommenden Flüssigkeiten der verschiedenen serösen Höhlen werden durch Punktion mit zweckentsprechenden Spritzen in Art der Pravazschen Spritze gewonnen. Der in der Physiologie häufigere Fall ist der, daß Flüssigkeiten, welche experimentell in seröse Höhlen eingebracht wurden, wieder aus denselben entfernt werden sollen; es kommen hierbei wesentlich die Pleural-, die Peritoneal- und die Perikardialhöhle in Betracht.

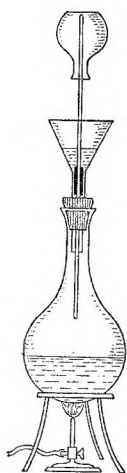


Fig. 1.

2. Entfernung experimentell eingebrachter Flüssigkeiten aus serösen Höhlen.

Handelt es sich nur um die Ermittlung von Konzentrationsveränderungen injizierter Flüssigkeiten, so bedarf es nur der Entleerung durch einen Troikar oder einen anderen kanüleartigen Instrument. Um Blutungen und Verletzungen von Eingeweiden, Lunge und Herz zu vermeiden, wird die vorsichtig eingeführte Spitze, nachdem man in die betreffende seröse Höhle gelangt ist, sofort zurückgezogen und nur das vorn gut abgerundete Troikarrohr in der Höhle belassen. Man kann sich auch der in der Chirurgie gebrauchten Aspiratoren von Dieulafoy oder Potain bedienen; doch bieten diese kostspieligen Apparate keine besonderen Vorteile gegenüber dem, was sich durch geeignete Lagerung des Tieres erzielen läßt.

Für Ermittlung der absoluten Mengen, etwa der Menge resorbierter Flüssigkeiten, ist jede Art Entleerungsmethode durch Ablassen vermittelt Kanülen ungenügend. Es stehen hierzu zwei andere Methoden zu Gebote. Bei der ersten wird das Tier getötet und die betreffende seröse Höhle breit eröffnet. Man stülpt dann das Tier über einen sehr breiten Trichter, durch den die Flüssigkeit in ein Meßgefäß ablaufen kann. Bei der Entleerung der Bauchhöhle müssen sorgsam die einzelnen Schlingen der Eingeweide voneinander abgehoben, auch die Leber und der Magen verschoben werden, damit nirgends etwas Flüssigkeit abgesackt bleibt, was sonst leicht vorkommt. Handelt es sich um die absolute Menge einer aufgelösten Substanz, so läßt sich dieselbe ziemlich genau durch Abspritzen der im Trichter hängenden Eingeweide mit Wasser oder einer indifferenten Flüssigkeit gewinnen. Diese Methode gestattet nur einen Versuch an je einem Versuchstier, ist aber zu empfehlen, wenn möglichst normale Verhältnisse der serösen Höhlen gewünscht werden. Eine andere Methode ist von Roth angegeben worden. Zunächst wird aus der Bauchhöhle die unmittelbar erreichbare Flüssigkeit (I) abgelassen. Dann wird eine als Waschwasser dienende isotonische Kochsalz-, Traubenzucker- oder Natriumsulfatlösung in bekannter Menge körperlarm in die Bauchhöhle infundiert. Der Unterleib des Tieres wird, um vollständige Durchmischung zu erreichen, kräftig geschüttelt und die Flüssigkeit darauf sofort abgelassen (II). Wenn die Menge der zur Auswaschung dienenden Lösung = M ist, die Konzentration von Portion I am ursprünglichen Lösungsbestandteil = U_1 Proz., die Konzentration von Portion II an demselben = U_2 Proz. ist, so ist der nach der ersten Ablassung in der Bauchhöhle gebliebene Rückstand:

$$R = \frac{M \times U_2 \text{ Proz.}}{U_1 - U_2 \text{ Proz.}}$$

Dieses Ergebnis kann man auf zweierlei Art kontrollieren, erstens durch eine ähnliche Berechnung auf Grund des Kochsalzgehaltes von Portion I und II, zweitens dadurch, daß auf das Experiment sofort die Tötung des Tieres folgt und das noch in der Bauchhöhle vorhandene Flüssigkeitsvolumen möglichst genau bestimmt wird (III). Es muß dann sein

$$II + III = M + R.$$

Die Methode gibt bis auf 2 mm genaue Resultate. Bei beiden Methoden ist es ratsam, nach einem von Hamburger gemachten Vorschlag, vor Be-

ginn des Versuches eine kleine Quantität isotonischer Kochsalzlösung in die seröse Höhle zu injizieren. Da diese für gewöhnlich leer sind, würde, ohne vorherige Befeuchtung der betreffenden serösen Höhle, bei der Entleerung eine gewisse Menge haften bleiben und, als resorbiert, falsch in Rechnung gebracht werden.

3. Aufsammeln von Blut zu physikalisch-chemischen Untersuchungen.

Das Gewinnen von Blut aus den Gefäßen der gebräuchlichen physiologischen Versuchstiere geschieht vermittelt in die Gefäße eingebundener Kanülen. Auf die mehr chirurgische Seite der Methodik, sowie auf die Gewinnungsart von Blut von Fischen und Wirbellosen wird hier nicht eingegangen. Da das Blut einzelner Gefäßprovinzen eine verschiedene physikalisch-chemische Zusammensetzung besitzt, und da ferner aus Gründen des Versuchsproblem es Blut aus verschiedenen Gefäßen benötigt wird, ist der Ort der Blutentnahme zu berücksichtigen. Bei größeren Säugetieren kann für arterielles Blut eine beliebige Arterie, auch eine Eingeweidearterie, eingebunden werden; das gleiche gilt für die Venen des Halses, der Extremitäten und die Vena mesenterica oder lienalis.

Zur Gewinnung von Blut aus dem rechten Vorhof, der Vena hepatica und der Vena cava inferior dient ein zuerst von v. Lesser angegebenes Verfahren. Es wird von der Vena jugularis aus entweder ein Metall- oder ein elastischer Katheter bis zu der gewünschten Stelle vorgeschoben. Blut der Vena cava inferior kann man auch leicht dadurch gewinnen, daß man von der Vena femoralis aus einen elastischen Katheter in die Vena cava inferior vorschiebt.

Bei mehrfacher Blutentnahme aus einer Arterie hat man nur darauf bedacht zu sein, sorgfältig jedes Mal die Kanüle zu reinigen und ein etwaiges Gerinnsel im Anfang des Gefäßes zu beseitigen. Hingegen wirkt, wie v. Lesser nachwies, das Einbinden einer Kanüle in die Arterie nicht im Sinne einer Stauung. Anders bei den Venen. Daher darf aus Venen eine mehrfache Blutentnahme nur dann stattfinden, wenn ein etwas stärkeres Ausbluten behufs Beseitigung der Stauung die Versuchsbedingungen nicht stört.

Es gibt Fälle, bei denen Blut völlig steril aufgefangen werden soll. Eine einfache Methode hierzu bietet die Anwendung eines Reagensglases. Am unteren Ende desselben wird eine feine Spitze ausgezogen und zunächst verschlossen. Das Reagensglas wird sterilisiert und mit einem Wattepropf verschlossen. Unter aseptischen Kautelen wird ein Gefäß freigelegt, die Spitze mit einem sterilen Instrument abgebrochen und in ein Gefäß eingestochen; hierdurch füllt sich das Reagensglas mit Blut.

Die beim Menschen gebräuchlichen Methoden zur Gewinnung von Blut werden an einer anderen Stelle dieses Werkes beschrieben. Dieselben sind nur zur Entnahme sehr kleiner Mengen bestimmt. Wie bei der Blutkörperchenzählung ist auch in Hinblick auf physikalisch-chemische Untersuchungen Stauung und Beimengung von Gewebsflüssigkeit möglichst zu vermeiden. Größere Mengen venösen Blutes kann man aus einer Armvene entnehmen. Man umwickelt den Oberarm fest mit einer Esmarchschen Binde und sticht in eine hervorgewölbte Vene eine mit einem Schlauch armierte sterile Platiniridiumspitze ein, worauf man sofort die Binde wieder löst.

Teil II. Vorbereitende Operationen an Körperflüssigkeiten.

1. Aufhebung der Gerinnung. Gewinnung von Plasma und Serum.

Die Art und Weise, wie das Blut zur weiteren Untersuchung vorbereitet wird, ist auf dessen physikalisch-chemische Zusammensetzung von Einfluß. Zunächst die Art des Defibrinierens, wenn es sich um das Gesamtblut handelt. Hamburger hat gefunden, daß eine Defibrinierung unter Luftzutritt die Verteilung der Blutbestandteile auf Körperchen und Blutflüssigkeit, gegenüber der im lebenden Körper bestehenden, verändert. Man muß daher ohne Luftzutritt defibrinieren. Hierzu kann man nach Freund, bei Verwendung von Pferdeblut, das Blut in einer Flasche unter Öl auffangen; nach Hamburger genügt sogar eine sorgfältig gereinigte und getrocknete Flasche, wenn man zur vollkommenen Vermeidung von Schaum das Blut vermittelst eines dem Boden der Flasche sich nähernden Gummiröhrchens einfließen läßt. Für alle anderen Blutarten, deren Blutkörperchen sich nicht so rasch setzen, benutzt man eine dickwandige Flasche, auf deren Boden Glascherben oder besser Glasperlen liegen, und schüttelt dieselbe nach Auffangen von Blut in verschlossenem Zustande.

Anstatt zu defibrinieren kann man auch anderweitig die Gerinnung des Blutes aufheben. Doch kommt für genaue physikalisch-chemische Untersuchungen nur ein einziges allgemein verwendbares Mittel in Betracht, nämlich das von Franz isolierte Hirudin, den wirksamen Bestandteil des medizinischen Blutegels. [Hirudin wird von der herstellenden Firma E. Sachße & Co., Leipzig, in verschlossenen Glasröhren à 1 g, 0,1 g und 0,01 g geliefert.] 1 Milligramm Hirudin hält 7,5 cm³ Kaninchenblut flüssig; für Menschenblut ist die Wertigkeit der Hirudins sogar noch größer. Der große Vorzug dieses Mittels besteht darin, daß es in minimalen Mengen und in Substanz angewandt werden kann, sowie vor allem darin, daß die physikalisch-chemischen Eigenschaften des Blutes, mit den zur Verfügung stehenden Methoden geprüft, nicht nachweislich geändert werden. Dies gilt z. B. von der Gefrierpunktniedrigung, der Leitfähigkeit und insbesondere auch von der Viskosität.

Gegenüber Hirudin haben andere gerinnungshemmende Mittel nur eine sehr beschränkte Anwendungsfähigkeit bei physikalisch-chemischen Untersuchungen. In Betracht kämen noch die von Arthus eingeführten Substanzen Ammoniumoxalat und Fluornatrium, deren gerinnungswidrige Wirkung auf der Kalkfällung beruhen. Vom Ammoniumoxalat dosiert man 1 Teil auf 1000 Teile Blut, vom Fluornatrium 3 Teile auf 1000 Teile Blut.

Die beiden genannten Substanzgruppen, Hirudin einerseits, Ammoniumoxalat und Fluornatrium andererseits, dienen auch dazu, Plasma zu gewinnen. Man zentrifugiert zu diesem Zwecke die mit den betreffenden Substanzen versetzten Blutsorten. Hirudin ist hierbei wiederum von großer Anwendbarkeit.

Nur für Pferdeblut gibt es eine Methode der Plasmagewinnung, frei von Zusätzen. Man fängt Pferdeblut in einem in Kältemischung stehenden Zylinder auf. Hält man den Zylinder einige Stunden auf 0 Grad, so setzt sich ein klares Plasma oben ab. Dasselbe kann zu physikalisch-chemischen Untersuchungen verwandt werden, in deren Verlauf das Plasma nicht erwärmt wird.

Serum wird am besten gewonnen durch ruhiges Stehenlassen von spontan gerinnendem Blute in einem verschlossenen Zylinder. Pferde, Kaninchen und Menschenblut geben das klarste Serum. Unter Luftabschluß defibrinirtes Blut (siehe oben) muß zentrifugiert werden. Eine möglichst rasch laufende Zentrifuge, z. B. die durch Elektromotoren betriebenen Zentrifuge von Fr. Runne (Heidelberg) ist zur Gewinnung eines in jeder Beziehung brauchbaren Serums Erfordernis. Behufs Gewinnung kleiner Mengen von Serum, welches möglichst vor Änderung geschützt und aseptisch sein soll, kann man sich mit Vorteil eines ähnlichen Verfahrens, wie schon oben beschrieben wurde, bedienen. Man zieht ein kleines sterilisiertes Rohr zu zwei spitzen Enden aus und schmilzt sie zu. Beim Gebrauch bricht man die beiden Enden auf und sticht das eine Ende in das zur Blutentnahme vorbereitete Gefäß. Nach der Füllung schmilzt man beide Enden wieder und

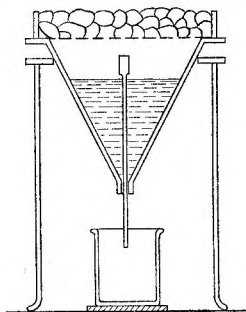


Fig. 2a.

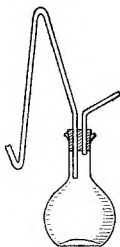


Fig. 2b.

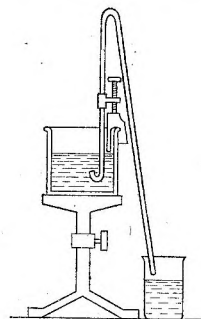


Fig. 2c.

hebt das Röhrchen in senkrechter Lage auf. Nachdem sich das Serum und der konsolidierte Blutkuchen getrennt haben, läßt man das klare Serum ablaufen.

Morochowetz empfiehlt die beiden folgenden Methoden zur Gewinnung von Blutserum. Das Blut wird in breite, niedrige Gefäße gesammelt, und das Coagulum nach der Gerinnung mit einem Messer in kleine Stücke zerschnitten, diese werden in ein Metallsieb gebracht, welches über einem entsprechenden Gefäße oder über einem Trichter angebracht ist. Die von den Coagulumstücken abfließende Flüssigkeit rinnt entweder in ein rundes (nach Dollfuß) oder in ein trichterförmiges (nach Rollett) Gefäß, durch welches bis zu der unteren Siebfläche ein Rohr geht, das am Boden des Gefäßes oder mittels eines Pfropfens in den verengerten Teil des Trichters angebracht ist, wobei das Rohr jedoch lose genug befestigt ist, um heraufgezogen oder heruntergeschoben werden zu können, damit diese oder jene abgestandene Schicht des Serums, nachdem die Flüssigkeit von dem in Siebe befindlichen Koagulum abgeflossen ist, abgegossen werden könne. Um das aus dem Siebe fließende defibrinierte Blut aufzufangen, benutzt man einen großen Glastrichter, der auf einem Dreifuß steht, in welchem eine für den Trichter bestimmte runde Öffnung ist. Damit in das Ableitungsrohr kein Blut gelangen könne (Fig. 2a.), ist es während des Abfließens der Flüssigkeit aus dem Siebe die ganze Zeit verkorkt, obgleich dessen oberes Ende über

dem mutmaßlichen Niveau der Flüssigkeit, welche durch dasselbe abfließen soll, steht. Zum Abheben des Serums und der Flüssigkeiten überhaupt von den Niederschlägen bedient sich Morochowetz eines aus einem Glasrohr gefertigten Siphons, dessen eines Ende, dasjenige, welches in die Flüssigkeit taucht, nach oben gebogen ist, das andere, längere, dagegen fest in einem Pfropfen steckt, der einen Kolben verschließt, in welchem mittels eines anderen Rohres leicht ein negativer Druck hervorgebracht und der Siphon dadurch in Tätigkeit gesetzt werden kann (Fig. 2b). Damit der Siphon in die Lösung vorsichtig eingetaucht werden könne, ist eine Schraube an dem Apparate angebracht, welche sogar an den Wänden eines Glasgefäßes befestigt wird (Fig. 2c).

Die zweite Methode (1891), welche besonders dann empfohlen wird, wenn möglichst schnell und gut Blutserum erhalten werden soll, ist folgende: Man läßt das Blut in breite, flache, auf einem Wasserbade bei 40—45—50° stehende Gefäße einfließen. Bei ruhigem Stehen und 2—4 und mehrstündigem Erwärmen bei besagter Temperatur scheidet das Blut in 12—24 Stunden um den kompakten Blutkuchen herum ein von Blutkörperchen ganz freies und mittels Pipetten oder Siphone leicht abzutrennendes Serum aus. Auf diese Weise erhaltenes Serum braucht nicht mehr abzustehen und kann nach dem Filtrieren sogleich benutzt werden. Auf solche Art erhält man ein bei weitem reineres Serum als nach allen anderen Methoden, die Zentrifugalmethode nicht ausgenommen.

2. Trennung der kolloiden und nichtkolloiden Bestandteile seröser Flüssigkeiten.

A. Abscheidemethoden.

1. Methode von Rossi: Bei dem großen Unterschiede in den physikalisch-chemischen Eigenschaften der kolloiden und nichtkolloiden Bestandteile einer Lösung wäre es erwünscht, Methoden zu besitzen, welche eine quantitative Trennung der beiden Bestandteile herbeiführen, ohne eine andere Änderung in der Zusammensetzung der Flüssigkeit zu bewirken. Eine solche Methode wurde von Rossi ausgearbeitet. Zentrifugenröhren werden mit Serum gefüllt und in eine Gefrier Mischung gesetzt. Wenn das Serum festgefroren ist, werden die Röhren in die Zentrifuge gesetzt und eine Zeitlang energisch zentrifugiert. Während des Zentrifugierens taut das gefrorene Serum auf und es tritt eine Schichtung in eine obere kolloidarme und eine untere kolloidreiche Schicht ein. Die Röhren werden vorsichtig unter Vermeiden von Schütteln von neuem gefroren und wieder zentrifugiert. Der Prozeß des Frierens und des Zentrifugierens wird so lange fortgesetzt bis das ganze in der Lösung vorhandene Eiweiß oder Kolloid eine schmale untere Bodenschicht bildet, welche sich schon durch ihre Farbe von der wasserklaren oberen Schicht absetzt. Das in 80 cm³ Serum enthaltene Eiweiß läßt sich bis auf 3 cm³ Volumen am Boden zentrifugieren. Bei dem Auftauen scheidet sich beim Zentrifugieren nicht allein Kolloid und Nichtkolloid, sondern auch die spezifisch schweren Kristalloide senken sich von der Oberfläche in tiefere Lagen. Um nun in der kolloidfreien Flüssigkeit in allen Schichten die ursprüngliche Zusammensetzung an kristalloiden Be-

standteilen wieder herzustellen, läßt man in den hermetisch geschlossenen Röhren die Hydrodiffusion den Ausgleich bewerkstelligen; der Prozeß läßt sich in der Wärme des konstanten Wasserbades beschleunigen. So erhält man schließlich, ohne irgend welchen Zusatz oder Anwendung hoher Temperatur, den Bodensatz des konzentrierten Kolloids und die darüberstehende Salzlösung von ursprünglichem osmotischem Druck. Bei Anwendung dieser Methode auf Serum benutzt man am besten Blut von Tieren, die gehungert haben oder mit fettfreier Nahrung gefüttert worden sind. Die Methode läßt sich auch auf andere kolloide Lösungen anwenden.

Man kann sich dieser Methode auch bedienen, um die Kolloide salzfrei zu machen. Zu diesem Zwecke gießt man nach vollendeter Trennung die obere kolloidfreie Lösung ab und ersetzt sie durch destilliertes Wasser. Dann mischt man die Kolloide mit dem Wasser, friert von neuem und zentrifugiert. Der ganze Prozeß des Mischens, Frierens und Zentrifugierens wird so lange wiederholt, bis die obere Flüssigkeit salzfrei ist.

2. Methode von Michaelis und Rona: Eine Methode zur Entfernung von Kolloiden aus ihren Lösungen, insbesondere zur Enteiweißung von Blutserum haben Michaelis und Rona auf das Prinzip gegründet, daß bei einer Mischung von relativ wenig Eiweiß mit sehr viel Mastix beide durch Zusatz einer kleinen Menge eines mehrwertigen Metallsalzes ganz ausgefällt werden. (Durch die Vermischung von wenig Eiweiß mit viel Mastix hat das Gemisch die physikalischen Eigenschaften des letzteren angenommen.) Es muß ein großer Überschuß von Mastix zugesetzt werden, damit dasselbe die total umhüllende Menge für das Eiweiß sei. Bei eiweißarmen Flüssigkeiten bis zu $\frac{1}{2}\%$ Eiweiß wird mit Essigsäure angesäuert und so viel einer 20% alkoholischen Mastixlösung zugefügt, daß der Alkoholgehalt der ganzen Flüssigkeitsmenge 30% nicht übersteigt. Dann setzt man pro Liter Flüssigkeit 10–15 cm³ gesättigter Kupferazetatlösung zu, worauf das Mastix mit dem Eiweiß in Flocken sich zu Boden setzt. Die überstehende eiweißfreie Flüssigkeit wird ganz klar und ist leicht filtrierbar. Das Kupfer läßt sich nachträglich durch H₂S völlig entfernen. Bei eiweißreichen Flüssigkeiten, z. B. bei Blutserum, verfährt man folgendermaßen: Ein Volumen unverdünntes Blutserum wird mit dem dreifachen Volumen absolutem Alkohol versetzt, dazu nach einigen Stunden (oder, wenn man den Niederschlag durch Filtrieren entfernt, sofort) 1 Volumen 50%iger Lösung von Mastix in absolutem Alkohol gegeben, dann mit Wasser verdünnt, bis der Alkoholgehalt der Gesamtflüssigkeit höchstens noch 30% beträgt. Hierauf folgt die eben beschriebene Behandlung mit Kupferazetat. Man filtriert die eiweißfreie Flüssigkeit nach einiger Zeit. Die Flüssigkeit enthält als Folge der Enteiweißungsmanipulation, die völlig bei Zimmertemperatur vor sich geht, außer Alkohol nur die geringe Menge des zugefügten Elektrolyten. Die Methode ist, wegen dieser Zusätze, nicht in der gleichen Weise anwendbar wie diejenige von Rossi. Sie ist aber sehr wertvoll bei der Untersuchung einer Reihe von physiologischen Prozessen, zu deren vollständiger Aufklärung nach der physikalisch-chemischen Seite hin auch die genaue Kenntnis der Zusammensetzung des wirklich eiweißfreien, sonst aber möglichst wenig veränderten Serums gehört.

An Stelle von Mastix kann nach Michaelis und Rona auch Kaolin verwandt werden. Blutserum wird mit 12–15 Teilen Wasser verdünnt und

mit so viel Essigsäure angesäuert, daß die anfänglich entstehende Trübung sich wieder auflöst. Dann fügt man auf je 100 ccm Flüssigkeit 20 bis höchstens 25 g Kaolinpulver hinzu, und zwar in etwa 4—5 Portionen, jedesmal unter kräftigem Durchschütteln. Damit ist die ganze Enteiweißungsmethode beendet. Der Niederschlag wird am besten abgenutscht. Auch für Blut läßt sich die Kaolinnmethode verwenden, indem man die Füllung fraktioniert bei mehrfacher Verdünnung vornimmt. Da der Vorgang irreversibel ist, hat dieses Verfahren kein Bedenken.

B. Trennung der Kolloide und Kristalloide durch Filtration.

Methode von Martin: Die Methode besteht darin, daß die Lösungen unter einem Druck von 40—50 Atm. durch eine Membran von Gelatine oder gelatinöser Kieselsäure filtriert wird. Die Membran wird einer Pasteur-Chamberlandkerze eingelagert.

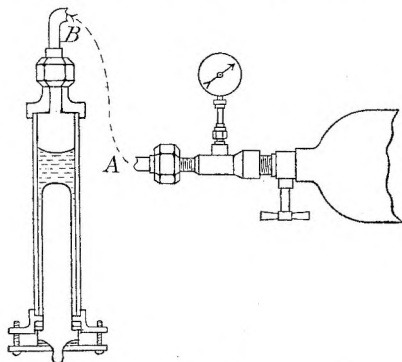


Fig. 3a.

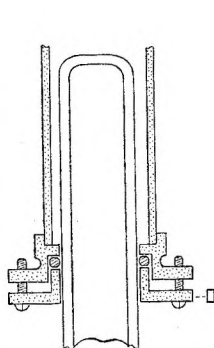


Fig. 3b.

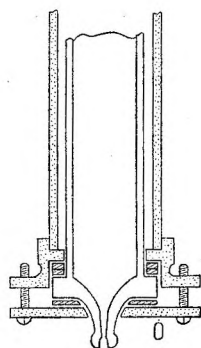


Fig. 3c.

Der ganze Apparat besteht 1. aus einem Stahlgaszylinder, welcher komprimierte Luft enthält, 2. aus einem T-Verbindungsstück, Kupferrohrverbindung und Druckmesser, 3. einem Filterbehälter aus innen verzinnem Kanonenmetall, 4. dem Pasteurfilter. Die ganze Anordnung ist aus der Figur 3a ersichtlich. Die Figur 3b gibt das hier nicht näher zu beschreibende Detail der Dichtung des Filterhalters. Fig. 3c zeigt die Einrichtung um auch abgebrochene Filterkerzen noch zu benutzen. Die Gelatinemembran wird aus 10 % iger Gelatinelösung bereitet. Der Filterbehälter wird mit der heißen Gelatinelösung gefüllt und mit dem Zylinder mit komprimierter Luft verbunden. Die Gelatine wird unter einem Druck von 10 Atm. filtriert. Im Verlaufe des Abkühlens sistiert die anfänglich rasche Filtration. Nach dem vollständigen Erkalten wird die herausgenommene Kerze von der außen anhaftenden Gelatine gereinigt. Die Kieselsäuremembran wird aus einer Lösung von Natriumsilicat von solcher Stärke bereitet, daß Zusatz von Salzsäure eine ziemlich steife Gallerte erzeugt. Diese Lösung wird unter einem Druck von 5 Atm. durch die Kerze filtriert und zwar einige Minuten lang. Darauf wird die Kerze herausgenommen, innen und außen gereinigt und mit 30% HCl gefüllt zwei Tage lang in ebensolche Säure eingetaucht erhalten. Die HCl diffundiert in die Poren und erzeugt dort einen gelatinösen Niederschlag von Kieselsäure.

Martin hat die Durchlässigkeit für eine Reihe von Stoffen geprüft. Es gingen absolut nicht durch von den Eiweißkörpern: Eiereiweiß, Serumalbumin, Eiglobulin, Serumglobulin, Fibrinogen, Kaseinogen, Nucleoalbumin, Hämoglobin, von den Kohlehydraten: Glykogen, lösliche Stärke, von den Farb-

stoffen: saures Hämatin, alkalisches Hämatin, Serumpigment, Eiweißpigment. In geringem Umfange gehen Azid- und Alkalialbuminat, Karamel, Biliverdin und Dextrin durch das Filter. Durchlässig ist dasselbe für Protoalbumose, Heteroalbumose, Deuteroalbumose, Urochrom und Kristalloide. Die Methode liefert aber, wie Waymouth Reid durch eine sorgfältige Kritik zeigte, hinsichtlich der Kristalloide keine quantitativ brauchbaren Resultate. Bei Filtration von Serum — dem wichtigsten Fall — ist das Filtrat durchaus nicht die ursprüngliche Flüssigkeit minus Eiweiß, sondern der Rückstand enthält noch eine Reihe von Substanzen, wie folgende Tabelle zeigt.

Beispiel: Filtration von Serum.

	gr. per Liter		
	Ursprüngl. Serum	Flüssigkeit im Filterbehälter	Filtrat
	$\Delta^0 - 0.5700^\circ$	$\Delta^0 - 0.595$	$\Delta^0 - 0.525$
Organische feste Bestandteile .	87.60	112.18	1.48
Eiweiß	82.54	103.99	0.00
Nicht Eiweiß org. Bestandteile .	5.06	8.19	0.78
Asche	9.42	10.20	8.85

Die Nichtberücksichtigung dieser Tatsachen hat zu Irrtümern in einigen für die Physiologie wichtigen physikalisch-chemischen Messungen geführt. Es ist ferner zu beachten, daß nicht allein jede einzelne in tierischen Flüssigkeiten vorkommende Substanz auf ihre quantitative Filtrierbarkeit geprüft werden muß, sondern auch, daß die Konzentration der Kolloidmembran und die allmähliche Imbibition derselben mit Substanz aus der zu filtrierenden Lösung von Einfluß ist. Bei Verwendung von nicht vollständig getrockneten Membranen wird das Filtrat auch durch Quellungswasser aus der Membran verdünnt.

Die Ultrafiltration von Bechhold.

Die Ultrafiltration von Bechhold dient dazu, kolloidal gelöste Stoffe von ihrem Lösungsmittel zu trennen und Mischungen von Kolloiden verschiedener Teilchengrößen voneinander gewissermaßen zu sieben. Als Filtermaterial benutzt man Gallerten (Kollodium, Eisessigkollodium, gehärtete Gelatine), bei denen durch Abänderung der Konzentration jede gewünschte Filterdichte und damit recht feine Abstufungen zu erreichen sind. Je nach der Filterdichte bedarf es eines Überdruckes von 0,2 bis 5 oder 6 Atmosphären. Fehlerquellen, die durch eine Voruntersuchung sich leicht ausschließen lassen, sind die Adsorption der zu filtrierenden Substanz selbst vom Filtermaterial und die Adsorption oder Entfernung durch Filtration eines Bestandteiles der Lösung, welcher für den Hydrosolzustand wesentlich ist.

Um der Gallerte einen Halt zu geben, empfiehlt es sich in den meisten Fällen, Gewebe, Filterpapier oder dgl. zu imprägnieren. Am praktischsten erweist sich starkes rauhes Filterpapier.

Die Filter werden im Vakuum mit Gallerte imprägniert. Man benutzt dazu den folgenden Apparat (Fig. 4a). Auf dem rechteckigen Glastrog T ist der Deckel D luftdicht aufgeschliffen. An der Querstange S sind eine Anzahl runder Filterscheiben F (ca. 12) aufgehängt. Der Deckel D hat zwei Tuben. Durch Tubus I gehen zwei Röhren; die eine führt nach der Luftpumpe L, die andere zum Vakuummeter V. Ist die Luft aus dem Trog entfernt, so läßt man durch den mit Hahn versehenen Trichter Tr, dessen

Rohr bis auf den Boden führt, die Gallertflüssigkeiten eintreten, bis sie die Filter bedeckt, schließt den Hahn zum Trichter und öffnet den Hahn, durch welchen ursprünglich die Luft ausgepumpt wurde; so wird die Gallertflüssigkeit unter Atmosphärendruck in die Filter gepreßt. Nach einiger Zeit nimmt man den Deckel ab, hebt die Stange mit den Filtern aus der Flüssigkeit und läßt abtropfen. Schließlich gelatiniert man, indem man rasch das ganze Filter in eine geeignete Flüssigkeit taucht; bei Eisessigkollodium genügt Wasser. Arbeitet man mit Gelatine, so muß der ganze Imprägniertrog in einem Bad mit lauem Wasser stehen. Die Härtung der Gelatinefilter erfolgt derart, daß man die an der Luft gelatinierten, noch feuchten Filter in eine mit Eis gekühlte, 2—4prozentige Formaldehydlösung taucht und einige Tage im Eis-schranke stehen läßt.

Die Filter, auf welche Art sie immer gewonnen sein mögen, werden dann mehrere Tage in fließendem Wasser gewaschen und in Wasser aufgehoben, dem man etwas Chloroform zusetzt, um Schimmelbildung zu unterdrücken.

Das Wasser läßt sich in den Filtern sukzessive durch organische Flüssigkeiten (Alkohol, Aceton usw.) ersetzen, so daß die Filter auch zur Trennung von organischen Lösungsmitteln dienen können. Sie sind gegen Verletzungen empfindlicher als Wasserfilter. Die Filter werden in einen Apparat gespannt, den Fig 4b im Schnitt darstellt. Er ist aus Rotguß, stark vernickelt und besteht aus einem zylindrischen Gefäß H, in dem der eigentliche Trichter Tr aufsitzt. Zwischen die unteren Ausbuchtungen von Tr und H werden die runden flachen Filterscheiben Fi gepreßt. Die Dichtung erfolgt durch zwei Gummiringe GG. Zum Schutze gegen das Reißen des Filters

liegt dasselbe auf einem ebenfalls flachen, runden Nickeldrahtnetz N auf und ist gegen zu starke Ausbuchtung bei Druck durch die mit mehreren großen Löchern durchsetzte Platte P geschützt. Der Trichter Tr ist oben konisch abgedreht und wird durch den Deckel D mit Konusverschluß und Gummidichtung abgeschlossen. Durch Andreihen des Schraubenverschlusses Schr wird sowohl der Deckel oben als auch der Filter unten mit einer Handbewegung dicht verschlossen. Durch den Deckel führt ein kleiner Ansatz mit Schraubenwindung, an dem das Rohr zur Druckpumpe (Schraubenverschluß mit

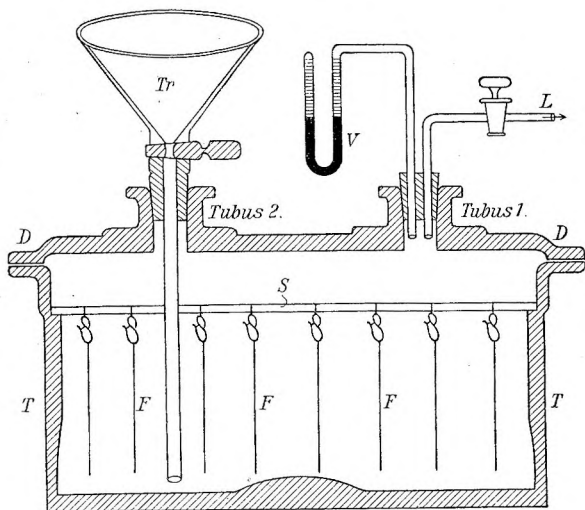


Fig. 4a.

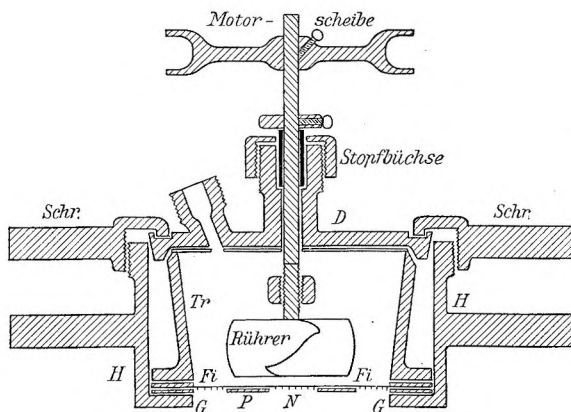


Fig. 4b.

Konus) befestigt wird. Dieser Apparat genügt für Drucke von 0,1–10 Atmosphären Überdruck.

Die hier wiedergegebene Abbildung zeigt eine besondere Modifikation des gewöhnlich benutzten Apparates. Während sonst der Deckel D glatt abschließt, befindet sich hier noch ein Rührer, der durch einen Elektromotor betätigt wird. Manche Kolloide scheiden sich leicht als Gallerte auf dem Filter ab (z. B. kolloidales Eisenoxyd; Kieselsäure, Albumin u. a.) und bilden selbst ein neues Filter, das oft dichter ist als das ursprüngliche, was, abgesehen von Täuschungen, eine große Erschwerung der Filtration zur Folge haben kann. In diesen Fällen hat sich der Rührer als sehr zweckmäßig erwiesen.

Als Standardlösung, um die Durchlässigkeit der Filter zu messen, dient eine 1 prozentige Hämoglobinlösung. Der Durchmesser der größten Poren von Filtern, die Hämoglobinlösungen zurückbehalten, ist $< 20 \mu\mu$. Verschiedene in derselben Lösung (z. B. Serum, Milch, Verdauungsgemischen) befindliche Kolloide lassen sich durch fraktionierte Filtration voneinander trennen. Bei geeigneter Filterdichte gibt die Filtration ein kolloidfrees Filtrat, das man sofort in einer konzentrierten Form erhält.

C. Anwendung der Dialyse.

Die Dialyse beruht auf dem Prinzip, daß gewisse Stoffe durch kolloide Membrane, wie tierische Haut, vegetabilisches Pergament u. a. hindurchgehen, andere nicht. Graham unterschied nach dieser Eigenschaft Kristalloide und Kolloide. Seit dieser von Graham gemachten Unterscheidung dienen Pergament-Membranen, in verschiedener Form angewandt, zur Trennung von Kolloiden und Kristalloiden. Die Dialyse geschieht entweder gegen Leitungswasser oder gegen destilliertes Wasser, in besonderen Fällen gegen andere Flüssigkeiten. Die Geschwindigkeit der Dialyse hängt ab von der Größe der Membranoberfläche, von der Erneuerung der äußeren Flüssigkeit, von der Temperatur und davon, ob die zu dialysierende Flüssigkeit bewegt wird oder nicht.

Das in den zunächst zu beschreibenden Dialysatoren allgemein verwandte Pergament muß vor dem Gebrauch geprüft werden, besonders die Pergamentschläuche bedürfen einer sorgfältigen Revision. Größere Fehler werden entdeckt, indem man dieselben bei durchfallendem hellen Licht (Fenster oder künstliches Licht) eventuell mit der Lupe durchmustert. Genauer wird die Prüfung durch Füllung mit Wasser, oder noch besser mit Blut; man sieht dann die durchperlenden Tröpfchen. Schlauchförmige Dialysatoren kann man unter Wasser stark aufblasen. Steigen dabei keine Luftblasen auf, so ist der Schlauch dicht.

Dialysator von Graham.

Die älteste, auch heute noch brauchbare Form des Dialysators stammt von Graham. Derselbe besteht aus einem Reifen aus Guttapercha, welcher mit Pergamentpapier überzogen wird. Das Pergamentpapier wird im angefeuchteten Zustand nicht allzu straff um den äußeren Rand des Ringes mit gewachstem Bindfaden befestigt; es kann auch durch einen zweiten, etwas höheren eng anschließenden Reifen an den inneren Reifen angepreßt werden. Der mit der zu dialysierenden Flüssigkeit gefüllte Reifen wird in eine möglichst große Schale, welche Wasser enthält, versenkt. Das Niveau im Außen- und Innengefaß soll gleich hoch sein. Die Außenflüssigkeit muß häufig gewechselt werden.

Dialysator von Kronecker.

Ein Dialysator, in dem die dialysierende Flüssigkeit fortwährend mit sich erneuernder äußerer Flüssigkeit umspült wird und die Dialyse in der Wärme gestattet, ist von Kronecker konstruiert worden.

Ein zylindrischer Blechbehälter *i* von 18 cm Höhe, 20 cm Durchmesser, ist mit Wasser gefüllt, dessen Temperatur durch einen Wärmeregulator *h* konstant erhalten werden kann. Ein Messinghahn *g* erleichtert die Entleerung des Topfes. Der Deckel hat zwei Öffnungen. In der zentralen, von etwa 9,5 cm Durchmesser, hängt ein tubuliertes Glas *e* (Fig. 5b) von 10 cm Höhe und 9 cm Lumen, mittelst des auf 10 cm Weite ausgebogenen Randes festgehalten. Durch das andere enge Loch reicht das Quecksilbergefäß des Regulators in das Wasserbad.

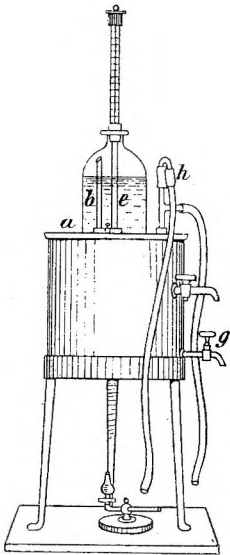


Fig. 5a.

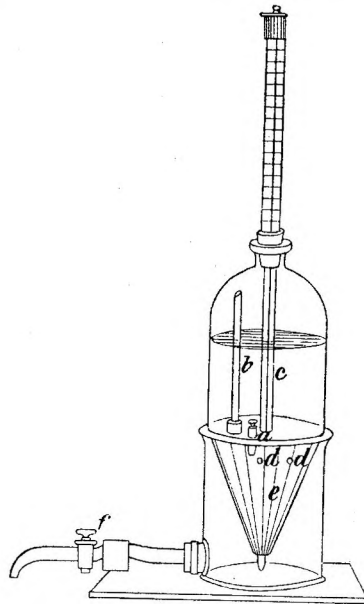


Fig. 5b.

Das Ausflußrohr mit dem Glashahne *f* ist im Tubulus des Glases befestigt, und durchsetzt, mit Hilfe eines Korkes wasserdicht die Hülle des Verdauungsrofens bei *f*. (Fig. 5a.) In dem Glase hängt ein spitzwinkliger Trichter, dessen Ausflußröhre abgeschnitten und dessen Wand 2 cm unter dem oberen Rande von einer Anzahl pfenniggroßer Löcher (*d, d*) durchbohrt ist. In dem Trichter liegt lose ein Faltenfilter von Pergamentpapier, welches bis zum Rande reicht; die Falten sollen nicht bis zur Spitze laufen, um Brüche zu vermeiden; das Papier ist zuvor anzufeuchten, der obere Filterrand aber trocken zu lassen, damit die innere Flüssigkeit nicht nach außen übersteigt. Auf das Glas ist eine Mariottesche Flasche gepaßt, deren Boden drei Löcher enthält, eins im Mittelpunkt und zwei nahe der Peripherie. Durch das eine der Randlöcher ist ein 0,5 cm weites Glasröhrchen a wasserdicht gesteckt, so daß es 2 cm lang in den Trichter zwischen Glaswand und Pergamentfilter hineinragt. Im Röhrchen ist ein ausgezogenes Glasstäbchen als konisches Ventil beweglich. Das spitze Ende desselben ragt unten etwas über das Röhrchen hinaus, so daß es von der Wand des Trichters gehoben wird, sobald man die Flasche auf das Diffusionsglas stellt. Ein Steigrohr *b* stopft das zweite Randloch und endigt mit schräg abgeschnittener Mündung etwa 2 cm

unter dem Flaschenboden. Ist also die Flasche mit Flüssigkeit gefüllt und auf den Diffusionstrichter gesetzt, in der Art, daß Steigrohr wie Ventilröhrchen außerhalb des Filters bleibt, so rinnt der Inhalt so lange in Trichter und Glas, bis die Steigrohrmündung durch das Flüssigkeitsniveau gesperrt wird. Dann wird durch den Druck der äußeren Luft, welche sich mit der im Flaschenraume enthaltenen nicht ausgleichen kann, die Flüssigkeit verhindert durch das Ventilröhrchen auszutreten, bis das Niveau, durch irgendeinen Umstand zum Sinken gebracht, Luftblasen durch das Steigrohr dringen läßt. So wird der Flüssigkeitsspiegel, unter dem Trichterrande an der Löcherreihe konstant erhalten. Durch diese Löcher wird der Austausch der Flüssigkeit innerhalb und außerhalb des Trichters im Glase begünstigt. Während der Diffusion findet eine lebhaft Zirkulation statt, indem die Flüssigkeit innerhalb des Trichters wegen der aufgenommenen Peptone schwerer als die außerhalb befindliche durch die untere Trichtermündung herabfällt und dünnere Lösung durch die Löcherreihe eintreten läßt.

Eine ähnliche, etwas einfachere Vorrichtung wurde später von Wolffhügel konstruiert.

Der Dialysator Huizingas hat nur noch historisches Interesse.

Dialysator von Kühne.

Der am häufigsten angewandte Dialysator ist derjenige von Kühne.

Er besteht aus einem Glaszylinder (Größe nach Bedürfnis), in welchem ein Pergamentschlauch angehängt wird (Fig. 6). Die Pergamentschläuche bezieht man am besten von der Firma Desaga & Co., Heidelberg. Leitungswasser läuft durch ein bis an den Boden reichendes Rohr in den Zylinder ein und oben durch ein seitliches Rohr wieder ab. Die Dialyse wird befördert, wenn man die Schläuche an einem Halter aufhängt, welcher dauernd durch einen Motor in Bewegung erhalten wird. Die leisen Abwärts- und Aufwärts-

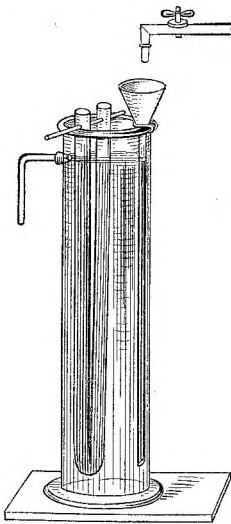


Fig. 6.

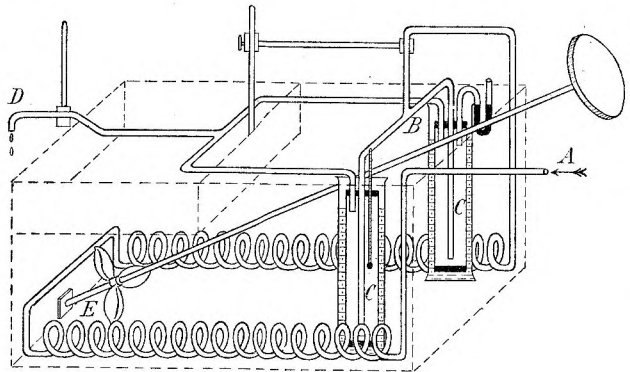


Fig. 7.

bewegungen bringen immer neue Teile der Innenflüssigkeit an die Wand heran. Man beendigt die Dialyse, welche 24 und 2 bis 3×24 Stunden dauern kann, damit, daß man mehrfach gegen destilliertes Wasser dialysiert.

Diffusionsapparat von Waymouth Reid.

Ein kupferner Kessel, 20 Liter Wasser enthaltend, (Fig. 7) wird durch einen großen Bunsenbrenner gewärmt und durch einen kleinen von einem Motor getriebenen Schraubengerührer gerührt. Der Bunsenbrenner befindet sich dicht unter der Schraube, wodurch die Konstanterhaltung der Temperatur erleichtert wird. Eine Rolle von engem Kupferrohr liegt

im Bad und erhält am einen Ende (A) Wasser von der Wasserleitung, während das andere Ende zwei Dialysierzylinder speist. Der Wasserstrom wird in den Kupferrohrwindungen erwärmt, durch ein T Rohr (B) von oben bis auf den Boden der beiden Zylinder (C C) geleitet und fließt oben ab. Durch das Rohr (D), welches verstellbar angebracht ist, fließt das Wasser nach außen. Die Kühneschen Schlauchdialysatoren hängen wasserdicht mit Kautschukstopfen verschlossen in den Zylindern. Diese selbst sind gleichfalls mit dreifach durchbohrten Stopfen verschlossen. Durch je zwei gehen die schon genannten Röhren, in je einem dritten steckt ein Thermometer auf der einen Seite, auf der anderen ein Manometer. Dieser Apparat gestattet, Temperatur, Druck und Flüssigkeitswechsel zu variieren, insbesondere auch Bedingungen ähnlich wie im Körper, z. B. bei der Darnresorption, herzustellen; ferner kann man gleichzeitig die Diffusionsgeschwindigkeit zweier Substanzen vergleichen. Bei solchen Vergleichen kann vorher die Dicke des Pergamentpapieres mit Hilfe eines Zeiss'schen Messers für Deckgläschen dicke bestimmt werden. Noch zuverlässiger ist die vorherige Prüfung der gleichen Permeabilität zweier Membranen durch Anstellung von Diffusionsexperimenten mit Traubenzucker.

Dialysierapparat von Siegfried.

Der Dialysierapparat besitzt drei Glasgefäße, von denen die beiden (Fig. 8, folg. Seite) äußeren die Form eines größeren Handexsikkators, das mittelste die eines Ringes haben. Zwischen diesen mit angeschmolzenen und abgeschliffenen Krämpfen versehenen Gefäßen werden zwei Scheiben von Pergamentpapier, durch Gummiringe gedichtet, mittels federn, an den Krämpfen anliegender, durch vier Schrauben zusammengepreßter Messingringe wasserdicht befestigt. Durch diese Pergamentpapierscheiben wird der Inhalt des Glasringes, welcher zur Aufnahme der zu dialysierenden Flüssigkeit dient, abgegrenzt. Die beiden äußeren Gefäße tragen je einen seitlichen und einen oberen Tubus. Die seitlichen Tuben kommunizieren durch rechtwinklig gebogene, mittels eines kurzen Stückes Gummischlauches verbundene Glasröhren. Das mittlere Gefäß besitzt oben einen geräumigen Tubus, durch den ein Rührer eingeführt ist. Dieser Rührer wird durch eine Wasserturbine, die an demselben Gestell, auf dem der Apparat montiert ist, bewegt. Mit Hilfe eines auf den oberen Tubus des in der Figur 8 rechts gelegenen Gefäßes aufgesetzten T-Rohres wird das aus der Turbine ausfließende Wasser in den Apparat geleitet, während der Überfluß durch das nach unten gebogene Ende des T-Rohres nach außen tritt. Das durch das rechte Gefäß einfließende Wasser drängt das Wasser aus diesem Gefäß durch die Verbindungsröhren in das linke seitliche Gefäß, aus dem es durch den oberen Tubus mittels einer kurz abgeschnittenen Glasröhre nach außen fließt. Bei diesem Apparate werden die Undichtigkeiten, wie sie beim Knicken von Pergamentschläuchen vorkommen, vermieden. Die zu dialysierende Flüssigkeit läßt sich während der Dialyse unausgesetzt beobachten und wird durch den Rührer fortwährend gemischt, so daß die Diffusion innerhalb der Flüssigkeit eliminiert wird.

Dialysierapparat von Gürber.

Der Apparat von Gürber setzt sich zusammen aus einem großen Kochkolben, in dem destilliertes Wasser verdampft wird, einem Kühler, in welchem der Wasserdampf kondensiert wird und dem Dialysierzylinder mit Pergamentschlauch. Das aus dem Kühler kommende Wasser gelangt in den Dialysierzylinder und fließt von diesem wieder in die Kochflasche, welche mit einem doppelt durchbohrten Kautschukstopfen verschlossen ist, wieder ab. Der Dialysierschlauch wird durch ein Rührwerk auf und ab bewegt. Der das Rührwerk bewegende kleine Wassermotor wird von Leitungswasser gespeist, welches durch den Mantelraum des Kühlers abläuft. Man kann also mit diesem Apparate einen kontinuierlichen Wechsel mit stets dem gleichen destillierten Wasser vornehmen. Die Vorrichtung arbeitet schnell und ist besonders auch geeignet zur Untersuchung der Außenflüssigkeit.

Andere wichtige Dialysiervorrichtungen. Neuerdings liefert die Firma Schleicher & Schüll Diffusionshülsen in zwei Formaten, 100×16 mm und 100×70 mm, welche sich vor den Schläuchen durch Fehlen der Naht und größere Dauerhaftigkeit auszeichnen. Der allgemeinen Anwendung dieser vorzüglich arbeitenden Hülsen stehen bis jetzt ihre noch kleinen Dimensionen und der relativ hohe Preis entgegen.

Ein wichtiger Ersatz der Pergamentschläuche sind in gewissen Fällen Schilfschläuche, die von Metschnikoff zunächst in die bakteriologische Methodik eingeführt wurden. Sie werden nach Podbelsky und Conradi auf folgende Weise hergestellt: Möglichst dicke Schilffrohre werden in ihre Segmente geteilt und diese eine Stunde in kochendes Wasser gelegt. An einem Segmentende wird hierauf durch sorgfältiges Abschneiden eine Strecke der innersten Membran freigelegt und der kleine Membranzylinder mit einem Seidenfaden zugebunden. Dieses zugebundene Ende wird auf einem abgerundeten Glasstab durch das ganze Segment hindurchgeschoben. Die Membran löst sich dabei von der Schilfwand und befindet sich schließlich in ganzer Ausdehnung auf dem Glasstab. Man kann so Schläuche von 15 cm Länge und 8 bis 10 cm³ Fassungsraum erhalten. Beim Diffusionsversuch werden die Schläuche über das mit einer Rolle versehene Ende eines Glasröhrchens gezogen und fest an dasselbe gebunden. Über die Glasröhre wird ein Kork geschoben und der mit der zu untersuchenden Lösung gefüllte Schlauch wird

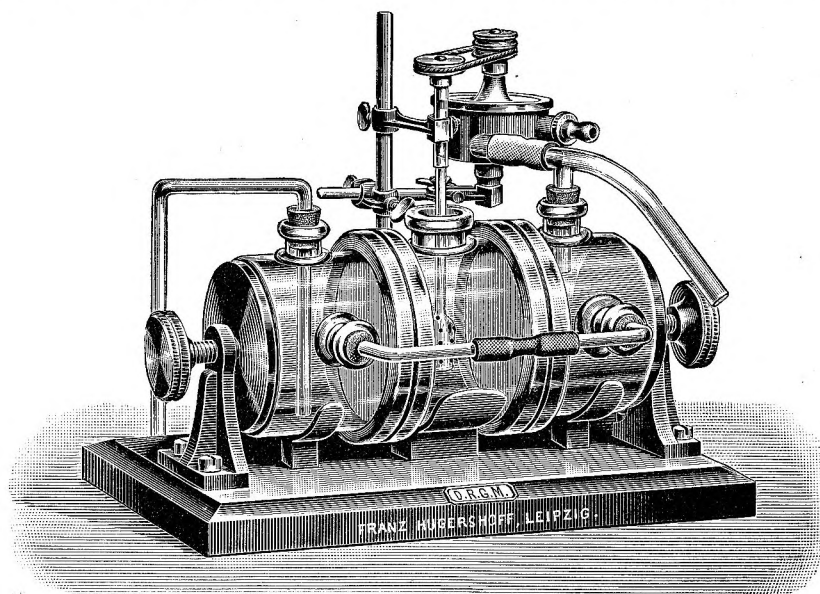


Fig. 8.

in ein Reagensglas getaucht. Philippson hat die Permeabilität dieser Schläuche für eine große Reihe von Stoffen untersucht. Von anorganischen Stoffen gehen durch: NaCl, KBr, KJ, KFI, KNO₃, KClO₃, KMnO₄, CO₂, K₂CO₃, KH₂PO₄, K₄P₂O₇, K₂S, K₂SO₃, KHSO₄, K₂Cr₂O₇, CaCl₂, BaCl₂, Sr(NO₃)₂, MgCl₂, Alaun, Chromalaun, ZnCl₂, NiSO₄, CuCl₂, HgCl₂, HgNO₃, CaCl₂, AgNO₃, PtCl₄, Na₃AsO₄, HPO₃, NaPO₃, Wolframsäure, Phosphorwolframsäure, molybdänsaures Ammon, H₂O₂, Bromwasser; nicht durchlässig waren nur kolloidales Eisenoxyd und ein Teil der Silicate. Von organischen Stoffen gehen durch: Chloroform, Alkohol, Azetaldehyd, Äther, Chloral, Glycerin, Glukose, Laktose, Galaktose, Furfural, Ferrozyankalium, Ferrizyankalium, Rhodankalium, Nitroprussidkalium, Benzol, Phenol, Brenzkatechin, Salizylsäure, a-Naphtol, Phloridzin, Piperidin, Atropin, Kokain, Morphin, Strychnin, Chinin, Gallensäure, Bilirubinnatrium, Erythrodextrin und Protalbumose. Nicht durchlässig sind die Schilfschläuche u. a. für Glykogen, für koagulable Eiweißkörper, für Heteroalbumose, Trypsin, hingegen nicht absolut undurchlässig für Pepsin.

Ganz allgemein gilt für alle Dialyseversuche, daß nicht generell alle sogenannten Kolloide durch Membranen nicht diffundieren. Eine erschöp-

fende Untersuchung hierüber steht noch aus. Bekannt ist aber z. B., daß kristallisiertes Eialbumin und Hämoglobin durch Leim diffundiert (Spiro), und Pepsin in koaguliertes Eiweiß (Dauwe) eindringt.

Die Dialyse findet in erster Linie Anwendung, um kolloide Substanzen, welche durch die betreffende Membran nicht diffundieren, frei von allen kristalloiden Bestandteilen zu machen. Ferner wird sie dazu benutzt, um zu entscheiden, ob bestimmte im Blute und anderen Flüssigkeiten vorhandene Substanzen kolloid gebunden sind oder nicht, ein für das Verständnis des im Organismus vorkommenden Stoffaustausches wichtiger Fall. Mit Hilfe der Dialyse haben Gürber und Zuntz und Loewy gezeigt, daß nur ein Teil des Alkalis im Serum diffusibel, also frei gelöst sei, Schenck, Arthus, Asher und Rosenfeld, daß Zucker im Blute frei gelöst, Asher und Rosenfeld, daß NaCl auch im Hungerblute frei gelöst sei. Schließlich dienen die Dialysierapparate, vornehmlich derjenige von Waymouth Reid dazu, um die Diffusionsgeschwindigkeit einzelner Substanzen, z. B. Zucker, Pepton u. a. zu vergleichen mit der Resorptionsgeschwindigkeit dieser Substanzen. Auf diese Art von Versuchen wird im Abschnitt, der über Diffusion handelt, eingegangen werden.

3. Das Zentrifugieren.

Eine schon mehrfach erwähnte allgemeine Methode ist das Zentrifugieren. Dasselbe dient zum Sedimentieren von korpuskulären Bestandteilen in Flüssigkeiten und von Niederschlägen, sowie zur Trennung in Schichten von Substanzen von verschiedenem spezifischen Gewicht. Die Zentrifugen werden entweder durch einen Wassermotor oder einen Elektromotor betrieben. Letztere sind vorzuziehen, weil sie größere Geschwindigkeiten erzielen. Vorzügliche Zentrifugen liefert Fr. Runne, Heidelberg. Der Sicherheit und des ruhigen Ganges wegen sollen die Zentrifugen auf festem, eventuell einzementiertem Steinsockel montiert werden. Am besten findet die Zentrifuge im Keller Aufstellung, welcher auch als Ort niedrigster Temperatur nützlich ist.

4. Aufbewahrung.

Die sofortige Untersuchung der gesammelten Körperflüssigkeiten ist das ratsamste, da eine Reihe von physikalisch-chemischen Eigenschaften, welche die Körperflüssigkeiten im Augenblick der Aufsammlung, beziehentlich im tierischen Organismus besaßen, mit der Zeit sich ändern. Die Ursachen hierfür sind das Entweichen von Gas, Veränderungen der Reaktion, Ausfall von Stoffen, infolge von Abkühlung oder Reaktionsveränderung, stoffliche Umsetzungen infolge spontaner, fermentativer oder bakterieller Prozesse usw. Die Vorsichtsmaßregeln, die man treffen muß, da man meist nicht in der Lage ist, sofort alle Untersuchungen zu erledigen, ergeben sich von selbst. Die Aufbewahrung im Eisschrank hält übrigens die Körperflüssigkeiten für viele physikalisch-chemische Untersuchungen im brauchbaren Zustand.

Teil III. Bestimmung des spezifischen Gewichts von Flüssigkeiten.

Allgemeines.

Das spezifische Gewicht einer Flüssigkeit ist das Verhältniß seines Gewichtes zum Gewicht eines gleichen Volum Wasser von 4°. Im Zentimeter-Gramm-System, mit Wasser von 4° als Einheit, ist das spezifische Gewicht das Gewicht der mit der Flüssigkeit gefüllten Volumeinheit. Da das Volumen einer Substanz mit der Temperatur sich verändert, muß bei jeder Bestimmung des spezifischen Gewichtes die Temperatur angegeben werden.

1. Bestimmung des spezifischen Gewichtes mit dem Pyknometer. Pyknometer sind Fläschchen von einem konstanten Rauminhalt. Je nach der zu Gebote stehenden Flüssigkeitsmenge wird man größere oder kleinere Pyknometer anwenden. Man wägt das Pyknometer zuerst 'leer, dann mit destilliertem Wasser gefüllt. Die Differenz der beiden Gewichte $P_w - P_L$ gibt das Volum des Pyknometers. Nach sorgfältiger Reinigung des Pyknometers wird es mit der zu untersuchenden Flüssigkeit gefüllt und gewogen. Die Differenz $P_F - P_L$ gibt das Gewicht der Flüssigkeit. Das spezifische Gewicht der Flüssigkeit ist dann:

$$s = \frac{P_F - P_L}{P_w - P_L}$$

Entweder müssen das Wasser und die Flüssigkeit auf bekannte, gleiche Temperatur gebracht werden, oder im Pyknometer während der Füllung. Hierzu eignet sich am besten die Ostwaldsche Form des sogenannten Sprengelschen Pyknometers.

Dasselbe wird mit Hilfe der abgebildeten Vorrichtung bis zur Marke vollgesaugt. Ist die Flüssigkeit über die Marke hinausgegangen, so wird an der kapillar ausgezogenen Spitze mit Fließpapier zurückgesaugt. Das gefüllte Pyknometer kommt dann in ein Bad von konstanter Temperatur und verbleibt dort 10—20 Minuten. Vor der Wägung wird das Pyknometer sorgfältig abgetrocknet.

Die anderen gebräuchlichen Formen des Pyknometer mit geschlossenem oder kapillar durchbohrtem Stopfen (letztere sind weniger genau) lassen sich für sehr kleine Substanzmengen herstellen. Mit zunehmender Kleinheit wachsen die Fehler infolge des Einflusses der Temperatur; Wägefehler sind bei Anwendung einer guten Wage weniger zu fürchten. Besondere Sorgfalt ist darauf zu verwenden, die Flüssigkeitsschicht, welche sich zwischen dem Stopfen und dem Rande des Halses vom Pyknometer leicht ansammelt, mit nicht faserndem Fließpapier zu entfernen. Bei kleinen Pyknometer ohne Thermometer bringt man alle Flüssigkeiten am besten auf Zimmertemperatur.

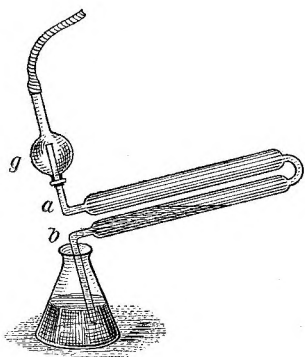


Fig. 9.

2. Bestimmung des spezifischen Gewichtes mit der Westphalschen Wage. Für größere Flüssigkeitsmengen erhält man sehr gute Resultate mit der Westphalschen Wage, von welcher sehr genaue Formen geliefert werden. Man kann mit derselben noch die dritte Dezimale genau bestimmen. Zunächst wird die Wage mit angehängtem Glaskörper in Luft genau äquilibriert, unter Zuhilfenahme der am Apparat angebrachten Stellschraube. Dann taucht man den Glaskörper in Wasser von 15° . Der Gewichtsverlust durch Auftrieb muß dann durch Anhängen des Reitergewichtes A, (es sind gewöhnlich 4 Reiter A_1, A_2, B und C beigegeben, $B = \frac{1}{10} A$, $C = \frac{1}{100} A$) an dem Ende des Wagebalkens, entsprechend dem Teilstrich 10, ausgeglichen werden. Inzwischen ist die zu untersuchende Flüssigkeit auf 15° gebracht worden. Der Glaskörper wird in die Flüssigkeit getaucht. Um Gleichgewicht bei Flüssigkeiten schwerer wie Wasser zu erzielen, werden die drei Reitergewichte A_2, B, C in die passenden Einkerbungen des in 10 geteilten Wagebalkens gehängt. Nennen wir die Teilstriche, in denen die Reiter A_2, B, C bei erreichter Kompensation hängen a, b, c, so ist, nach dem Hebelprinzip

$$s = 1, a \ b \ c.$$

Bei Flüssigkeiten leichter wie Wasser, muß der Reiter A_1 vorerst entfernt werden, sonst wird wie vorher verfahren.

Es ist

$$s = 0, a \ b \ c.$$

Es muß darauf geachtet werden, daß jedesmal der Eintauchkörper mit dem Platindraht, an welchem er aufgehängt ist, so weit in die Flüssigkeit eintaucht wie beim destillierten Wasser.

3. Das Aräometer. Die Aräometer beruhen auf dem Prinzip, daß ein Körper beim Schwimmen so tief in die Flüssigkeit eintaucht, daß die von ihm verdrängte Flüssigkeit ebensoviel wiegt als er selbst. Der Teilstrich, bis zu welchem der Stiel des Aräometers einsinkt, zeigt auf einer empirischen Skala das spezifische Gewicht; einige Aräometer sind so eingerichtet, daß sie den Prozentgehalt gewisser Lösungen angeben, z. B. Alkohol, Zucker, u. a. m. Das in die Flüssigkeit getauchte Aräometer wird durch die Flüssigkeit hindurch an der Oberfläche abgelesen; die Temperatur ist festzustellen. Die gewöhnlichen Aräometer sind nicht sehr genau; Ablesefehler und Kapillarität bedingen Fehler. Es werden aber Sätze von Präzisionsaräometern geliefert, welche fast so genaue Werte geben, wie die Pyknometer.

Spezielles.

Für die Bestimmung des spezifischen Gewichtes zu physiologischen Zwecken kommen in Betracht die zur Verfügung stehenden Mengen der Flüssigkeit und die Natur derselben, schließlich der Genauigkeitsgrad, der angestrebt wird. Hat man größere Mengen einer klaren Flüssigkeit zur Verfügung, z. B. Harn, so wird man gleich gut mit der Westphalschen Wage und dem Pyknometer fahren. Die Westphalsche Wage hat den Vorzug, daß man geschwinder damit arbeiten kann. Bei undurchsichtigen Flüssigkeiten wie Blut, Milch, Galle kann es Schwierigkeiten machen, die Grenze des Eintauchens scharf zu markieren, beziehentlich abzulesen, worauf bei

Anwendung von der Westphalschen Wage und von Aräometern zu achten ist. Ferner spielt die Zähigkeit dieser Flüssigkeiten, deren Oberflächenspannung und ihre Neigung zu kriechen eine Rolle. Immerhin ergaben vergleichende Bestimmungen desselben Blutes z. B. mit dem Pyknometer, einer sehr genauen Westphalschen Wage und einem Satz von Präzisionsaräometern den nämlichen Wert für das spezifische Gewicht für 4 Dezimalstellen.

Bei kleinen Mengen kommen von den genannten Methoden nur die Pyknometer in Betracht. Klare Flüssigkeiten werden in einer kleinen Form des Ostwald-Sprengelschen Pyknometers untersucht. Blut, Milch, Galle usw. werden aber besser in einem verschlossenem Pyknometer untersucht. Hat man beim Füllen des Ostwald-Sprengelschen Pyknometers die Marke überschritten, so bleibt eine Schicht der klebrigen Flüssigkeiten an der Wand haften, die nicht unerhebliche Fehler bedingen kann. Besondere Sorgfalt ist darauf zu verwenden, daß beim Füllen keine Luftblasen in der Flüssigkeit eingeschlossen bleiben. Es ist daher jede Manipulation zu vermeiden, welche Schaumbildung hervorruft. Einzelne Schaumbläschen müssen mit einem dünnen Platindrähtchen zerstört werden.

Besondere Methoden.

1. Methoden zur Bestimmung des spezifischen Gewichtes des Blutes.

Bei sehr vielen physiologischen Untersuchungen, namentlich auch bei Untersuchungen am Menschen, darf nur eine geringe Menge Blutes entnommen werden. Außer dieser Schwierigkeit kommt noch beim Blute die hinzu, daß es außerhalb der Blutbahn gerinnt. Daher bedarf man behufs Bestimmung des spezifischen Gewichtes eigener Methoden.

Aräometrische Methode von Roy und Hammerschlag.

Es werden eine Reihe von Salzlösungen verschiedenen spezifischen Gewichtes zwischen 1040 und 1067,5, etwa zwölf, bereit gehalten. Der durch Anstechen gewonnene Blutstropfen oder Teil eines Blutropfens wird mit einer besonders konstruierten Spritze, deren Nadel unten bis in das Innere der Röhre reicht und deren Spitze vorn abgeglättet ist, eingesaugt, unter peinlicher Vermeidung von Luftblasen. Die Spritze wird vorher zur Hälfte oder drei Viertel mit Salzlösung gefüllt. Ist das spezifische Gewicht des Blutes größer als das der Lösung, so sinkt der Tropfen sofort unter, ist es kleiner, so steigt der Blutstropfen in die obere Partie der Spritze. Man wiederholt die Prozedur, bis man die richtige Lösung gefunden hat. Fehlerquellen dieser Methode sind die Gerinnung des Blutes und die Diffusion desselben in die Flüssigkeit.

Hammerschlag benutzt als Flüssigkeit Mischungen von Benzol und Chloroform. Dieselbe und ein Tropfen Blut kommt in ein Reagensglas, es wird so lange vorsichtig entweder Benzol oder Chloroform zugemischt bis der Blutstropfen gerade schwimmt. Der Blutstropfen wird dann durch Leinwand abfiltriert und das spezifische Gewicht der Flüssigkeit bestimmt.

Eykmann modifizierte die Hammerschlagsche Methode dahin, daß er eine Reihe von Salzlösungen anfertigt, die eine bestimmte ganz kleine Diffe-

renz im spezifischen Gewicht aufweisen (z. B. 0,0002). Dieselben werden zur besseren Unterscheidung mit kleinen Mengen Anilinfarbstoff gefärbt. Nachdem nun der zu untersuchende Blutstropfen in der Chloroformbenzolzumischung zum Schweben gebracht worden ist, sucht man diejenige Lösung auf, von welcher ein Tropfen gerade in derselben Schicht wie der Blutstropfen schwebt. Diese Methode ist viel genauer als die Hammerschlagsche, weil trotz Umrührens die verschiedenen Schichten der Chloroformbenzolzumischung ein verschiedenes spezifisches Gewicht haben. Die Eykmannsche Modifikation gestattet aber gerade das spezifische Gewicht derjenigen Schicht, in welcher der Blutstropfen schwebt, zu ermitteln.

Pyknometrische Methode nach Schmalz.

Eine Glaskapillare von $1\frac{1}{2}$ mm innerem Durchmesser und 12 cm Länge, die an beiden Enden leicht verengt ist, wird trocken, mit destilliertem Wasser und mit Blut gefüllt gewogen; Berechnung wie oben.

Bestimmung des spezifischen Gewichtes der Serums nach Hammerschlag.

Blut wird in einer Kapillare von 1—2 mm Lumen aufgefangen, gerinnt dort und sedimentiert. Beide Enden der Kapillare werden mit Wachs verschlossen. Nachdem die Trennung von Serum und Blutkuchen eingetreten ist, wird an der Grenze beider die Kapillare mit der Feile getrennt. Das spezifische Gewicht des Serum wird dann nach der Benzolchloroformmethode von Hammerschlag bestimmt. Zur Bestimmung des spezifischen Gewichtes des Plasmas dürfte sich ein Körnchen Hirudin empfehlen.

Methode von Bleibtreu zur Ermittlung des Serumvolums mit Hilfe des spezifischen Gewichtes.

Die Methode ist eine Mischungsmethode, indem aus den Veränderungen des spezifischen Gewichtes je nach dem Mischungsverhältnis auf das Volum des Serum geschlossen wird.

Die Berechnung geschieht auf Grund folgender Überlegung: Es mögen s cem Kochsalzlösung mit b cem defibrinierten Blutes gemischt werden. Das spezifische Gewicht der aus dieser Mischung nach Absetzen der Blutkörperchen gewonnenen Kochsalzlösung-Serum-Mischung werde gleich S ermittelt. Wenn dann ferner mit So das spezifische Gewicht des Serums, mit K das spezifische Gewicht der benutzten Kochsalzlösung bezeichnet wird und a den echten Bruch bedeutet, mit welchem man das Blutvolum f multiplizieren muß, um das darin enthaltene Flüssigkeitsvolumen zu erhalten, so gilt:

In 1 Volum Salzlösung-Serum-Mischung sind enthalten $\frac{bx}{s + bx}$ Volum Serum und $\frac{s}{s + bx}$ Volum Salzlösung.

Ein Volum Salzlösung Serum-Mischung wiegt S .

Der erste Bestandteil wiegt $\frac{bx}{s + bx} \times So$.

Der zweite " " " " $\frac{s}{s + bx} \times K$.

Es folgt darauf die Gleichung:

$$S = \frac{bx}{s + bx} S_0 + \frac{s}{s + bx} K.$$

Daraus findet man:

$$x = \frac{s S - K}{b S_0 - S}$$

Man kann also aus dem spezifischen Gewicht des Serums und einer Mischung immer das relative Serumvolum bestimmen, vorausgesetzt, daß man das spezifische Gewicht der benutzten Kochsalzlösung kennt. Macht man zur Kontrolle mehrere Mischungen, so fügt man in dieser Gleichung s , b und S den entsprechenden Index zu. Die zugesetzte Kochsalzlösung muß eine mit den Blutkörperchen des betreffenden Tieres streng isotonische sein, weil sich sonst das Volum der Blutkörperchen ändert. Bei Säugetieren ist demnach eine etwa 0.9% NaCl Lösung anzuwenden. Bleibtren selbst hatte 0.65% NaCl vorgeschlagen, was durch die Kritik von Hamburger und Hedin als unrichtig dargetan wurde. Bleibtren hat noch zwei andere Mischungsmethoden zur Bestimmung des Volums von Blutkörperchen und Serum angegeben, welche aber nicht physikalisch-chemischer Natur sind.

2. Bestimmung des spezifischen Gewichtes des Kammerwassers und anderer kleinster Flüssigkeitsmengen.

Pyknometrische Methode von Golovino: Golovino hat zunächst zur Bestimmung des spezifischen Gewichtes des Kammerwassers ein Pyknometer konstruiert, welches aber auch für andere kleinste Flüssigkeitsmengen brauchbar ist.

Es stellt ein kugelförmiges Fläschchen aus festem klaren Glase dar; die Kugel geht in einen langen Hals über, welcher mit einer konischen Erweiterung endet, deren Öffnung durch einen sorgfältig eingepaßten gläsernen Stöpsel geschlossen wird. Am Hals befindet sich ein feiner, genau ausgeführter Strich. Das Volumen bis zum Strich und folglich auch die äußere Größe der Kugel ist bei verschiedenen Pyknometern verschieden, in dem kleinsten war das Volumen ungefähr 0,15 ccm. Die obere Erweiterung des Halses ist so lang, daß man das Pyknometer während der Arbeit daran fassen kann. Die innere Fläche der Erweiterung geht allmählich in den Hals über, damit die Flüssigkeit ohne Hindernis herabfließen kann. Die Weite des Kanals des Halses beträgt ungefähr $1\frac{1}{4}$ — $1\frac{1}{2}$ mm. Dieser Kanal wird von regelmäßigen gradlinigen Wänden gebildet.

Die Technik der Anwendung dieses Pyknometers zerfällt in folgende Teile:

1. Die Vorbereitung und Reinigung des Pyknometers. Die innere Fläche muß sorgfältig ausgewaschen und dann getrocknet werden. Da die Flüssigkeit nicht von selbst durch den engen Kanal des Halses dringen kann, so ist das einfachste zum Auswaschen sich einer gläsernen Pipette mit einer langgestreckten, fast kapillaren Spitze zu bedienen; die Spitze muß so fein sein, daß sie bis auf den Grund des Pyknometers dringen kann. Mit Hilfe solcher Pipetten wäscht man den Apparat nacheinander mit destilliertem Wasser, absolutem Alkohol und Äther. Um diesen letzteren zu entfernen, kann man das Pyknometer einer Hitze von 100° aussetzen, oder — was einfacher ist — man wendet eine Wasserpumpe an. Das konstante Gewicht, als Resultat zweier Wägungen, muß zeigen, daß der Apparat vollkommen befriedigend getrocknet ist.

2. Die Füllung des Pyknometers mit der zu untersuchenden Flüssigkeit. Das Kammerwasser, welches man in die Spritze gesammelt hat, muß man sogleich und durch dieselbe Nadel in das Pyknometer entleeren. Am besten ist es Spritzen solchen Systems zu benutzen, bei dem der aufsaugende Teil des Apparates (z. B. der Pumpenstengel) von dem Zylinder abgesondert ist, wodurch die Möglichkeit einer Verunreinigung der Flüssigkeit durch den Pumpenkolben ausgeschlossen ist. Dieser Zylinder muß ebenso wie das Pyknometer jedesmal ausgespült und getrocknet werden. Das Pyknometer wird mit der zu untersuchenden Flüssigkeit so weit gefüllt, daß dieselbe 2—3 mm über dem Strich steht, dann wird die Innenseite des Halses rasch ausgewischt und das Pyknometer mit dem Stöpsel geschlossen. Zum Auswischen dienen Stückchen von Blumen-

papier, die man zu dünnen Stäbchen zusammengedreht hat. Dann untersucht man den Apparat durch die Lupe und entfernt etwaige in der Flüssigkeit vorhandene Luftbläschen durch vorsichtiges Klopfen an die Kugel. Dann schreitet man zur Bestimmung des Volumens der Flüssigkeit bei beständiger Temperatur, am besten bei 0°, man faßt das Pyknometer am Hals und versenkt es bis zum Strich in ein Gefäß mit schmelzendem Schnee oder Eis, wo es $\frac{1}{4}$ Stunde bleiben muß. Dann öffnet man vorsichtig den Stöpsel, entfernt die überstehende Flüssigkeit, — wozu man sich einer feinen Pipette bedient, — und stellt unter Kontrolle der Lupe den Rand des Meniskus auf den Strich ein; dann wischt man nochmals die Innenfläche des Halses mit dem Papierstäbchen aus. Nachdem man den Stöpsel fest geschlossen hat, nimmt man das Pyknometer aus dem Schnee, spült es von außen mit destilliertem Wasser ab und trocknet es mit gutem (nicht faserndem) Filtrierpapier und legt es auf die Wage, wobei man es nicht mit den Fingern, sondern mit einer Pinzette faßt.

3. Die Wägung muß sehr sorgfältig ausgeführt werden, mit allen Vorsichtsmaßregeln, die für solche Arbeiten gebräuchlich sind: man läßt das Pyknometer einige Minuten unter der Glasglocke der Wage zur Regulierung der Temperatur; vor jeder Wägung muß man die Schwingungen des Wagebalkens regulieren, immer ein und dieselben Gewichte benutzen usw. Die Wage muß so genau sein, daß man 0,1 mgr. feststellen kann.

3. Spezifisches Gewicht von Organstücken.

Um das spezifische Gewicht von Organstücken zu bestimmen, bedient man sich der Royschen beziehentlich Hammerschlag-Eykmannschen Methode. Die Fehlerquellen der Methode sind hierbei nicht unerheblich. Das betreffende Organstück muß sehr sorgfältig behandelt und die Untersuchung muß mit großer Geschwindigkeit ausgeführt werden, um Veränderungen auszuschließen. Besonders gilt das letztere bei der Anwendung von Glycerin in der ursprünglichen Royschen Methode, da dasselbe sehr rasch in gewisse Gewebe eindringt. Es muß peinlich darauf geachtet werden, daß dem Gewebsstück keine Luftblasen adhärieren. Durch Anwendung gekochter Lösungen kann man sich das Fernhalten von Luftblasen einigermaßen erleichtern. Schließlich ist dem Umstande Rechnung zu tragen, daß das zu untersuchende Gewebsstück möglichst frei von anderen Gewebsbestandteilen untersucht wird. Die oben beschriebene Eykmannsche Modifikation der Hammerschlagschen Methode ist für kleine Gewebspartikel in bezug auf Raschheit und Genauigkeit des Verfahrens gut brauchbar.

Teil IV. Physikalisch-chemische Methoden zur Bestimmung der Konzentrationsverhältnisse und des osmotischen Druckes.

Allgemeines.

Mit Hilfe physikalisch-chemischer Methoden werden die molekulare Konzentration, die Ionenkonzentration sowie die sogenannte osmotische Konzentration bestimmt. Die molekulare Konzentration wird ausgedrückt durch eine Zahl, welche angibt, wie viele Gramm des Molekulargewichtes der gelösten Substanz in einem Liter vorhanden sind. Einheit der Konzentration ist ein Mol im Liter. Nach der elektrolytischen Dissoziationstheorie von Arrhenius sind die Elektrolyte (Säuren, Basen und Salze) mehr oder weniger in Ionen gespalten, deren im Liter vorhandene Menge als Ionenkonzentration bezeichnet wird. Alle Bestimmungsmethoden beruhen in letzter Linie darauf,

daß die in Lösung vorhandenen Moleküle und Ionen gewisse Wirkungen der Lösungen verursachen, nämlich Lieferung von Potentialunterschieden und Leistung von chemischer Arbeit. Aus der Größe dieser Wirkungen wird auf die zugrunde liegende Konzentration geschlossen. [Die Lehren, welche diesen physikalisch-chemischen Messungen zugrunde liegen, sind in allen den bekannten Lehrbüchern der physikalischen Chemie eingehend dargelegt. Dort findet sich auch die notwendige Berücksichtigung des hypothetischen Elementes, welches in die hier zu beschreibenden Konzentrationsmessungen mit eingeht, nämlich der Hypothese von Avogadro].

Abteilung 1. Bestimmungen des osmotischen Druckes.

1. Direkte Methode.

Der osmotische Druck wird meist mit indirekten Methoden bestimmt. Es ist aber von Wichtigkeit, denselben auch direkt zu bestimmen; erstens deshalb, weil die direkte Bestimmung an und für sich vorzuziehen ist, zweitens deshalb, weil die direkte Bestimmung da, wo sie anwendbar, genauer als die indirekte ist.

Methode von Pfeffer: Die Methode von Pfeffer ist die klassische, da durch sie zum ersten Male der osmotische Druck meßbar dargelegt wurde und die mit dieser Methode erhaltenen Werte die experimentelle Grundlage geworden sind für die Entwicklung der Lehre vom osmotischen Druck. Sie besteht darin, daß eine Traubesche halbdurchlässige Membran in eine Tonzelle eingelagert wird, die Tonzelle mit der zu untersuchenden Lösung gefüllt verschlossen und mit einem Hg-Manometer verbunden wird; darauf wird die Zelle in ein Gefäß mit destilliertem Wasser gesetzt. Die genauere Herstellungsweise ist folgende:

Ein kleiner Tonzylinder, etwa das untere Ende einer Chamberlandkerze, wird mit einem Kautschukpfropfen verschlossen, durch dessen Bohrung ein Glasrohr geht. Der in verdünnte Salzsäure getauchte Zylinder wird mit der Wasserluftpumpe verbunden und die Salzsäure zur Reinigung der Poren von Kaolinstäubchen durchgesaugt. Auf dieselbe Weise wird mit Wasser gereinigt, schließlich wird die Zelle durch längeres Kochen in Wasser von Luft befreit. Dann wird die Zelle in eine 13.9% Lösung von Kaliumferrozyanid eingetaucht und die Lösung durchgesaugt; nach oberflächlicher Abspülung wird die Zelle mit 24.1% Lösung Kupfersulfat innen und außen umgeben. Innerhalb 15–40 Stunden bildet sich in der Wand des Tonzylinders eine haltbare Membran von Ferrozyankupfer.

Gute Membranen zu erhalten, ist ziemlich schwierig, und dieser Umstand hat mit dazu beigetragen, daß die Pfeffersche Methode seitdem wenig angewandt wurde.

Morse und Horn haben ein Verfahren angegeben, um sehr vollkommene Membranen in Tonzellen einzulagern. Zunächst wird die Luft aus den Poren durch einen endosmotischen Strom entfernt. Die Zelle wird mit einer verdünnten Lösung K_2SO_4 gefüllt und in ein Gefäß mit derselben Lösung nahe bis zum oberen Rande getaucht. Dann wird ein Strom von einer Dynamomaschine durchgeschickt vermittelt einer Kupferelektrode, welche außen die Zelle umgibt, und einer innen befindlichen Platinelektrode. Die in der Zelle emporsteigende Flüssigkeit wird entfernt und in kurzer Zeit ist alle Luft aus den Poren entfernt. Darauf wird die Zelle wiederum mit $K_4Fe(CN)_6$ gefüllt und in ein Gefäß mit $CuSO_4$ getaucht. Ein Strom wird wieder durchgeleitet und dadurch werden von einer Seite die $Fe(CN)_6$ Ionen, von der anderen Seite die Cu Ionen in

den Ton gepreßt. Die Zelle mit der Membran wird nach Füllung mit der zu untersuchenden Lösung mit guter Dichtung verschlossen; die Figur 10 zeigt die Pfeffersche Anordnung hierzu nebst dem Röhrchen, welches nach Entfernung der letzten Spur Luft zugeschlossen wird, und dem Hg-Manometer. Die Zelle wird in destilliertes Wasser getaucht, so daß das Innen- und Außenniveau gleich ist. Die gesamte Einrichtung kommt in ein Wasserbad von konstanter Temperatur. Das Manometer beginnt zu steigen und erreicht nach zwei oder mehr Tagen ein konstantes maximales Niveau. Die Voraussetzung dafür, daß mit Hilfe dieser Vorrichtung der osmotische Druck richtig bestimmt wird, ist die, daß die betreffende Membran nur durchlässig für Wasser, und absolut undurchlässig für die in Lösung befindliche Substanz ist. Für die Membranbildner trifft das zu, praktisch vollständig auch für den von Pfeffer vornehmlich zum Studium des osmotischen Druckes benutzten Rohrzucker.

Die Permeabilitätsverhältnisse der einzelnen Membrane sind von Tamann und Walden eingehend untersucht worden. Für die in den tierischen Flüssigkeiten vorkommenden Substanzen muß in jedem Einzelfall die Permeabilität untersucht werden; leider ist wegen Mangels geeigneter Membranen die Anwendungsfähigkeit der Methode Pfeffers eine beschränkte.

2. Methoden zur direkten Bestimmung des osmotischen Druckes kolloider Lösungen.

Von besonderem Interesse in der Physiologie ist die Frage nach dem osmotischen Druck kolloider Lösungen. Die Ansichten über das eventuelle Vorkommen und die etwaige Höhe des osmotischen Druckes kolloider Substanzen, hierunter vornehmlich auch des Eiweißes, sind noch geteilt. Das rührt besonders daher, daß die zumeist angewandten indirekten Methoden nicht denjenigen Grad hoher Genauigkeit besitzen, den sie gerade für die exakte Bestimmung des hier zu erwartenden niedrigen Druckwertes haben müßten. Hier müßten die direkten Methoden einspringen.

Methode von Starling: Die Methode von Starling zur Messung des osmotischen Druckes des Eiweißes im Serum beruht auf dem Prinzip, zwei Serumarten in einem Osmometer als Außen- und in Innenflüssigkeit zu benutzen, welche sich nur in ihrem Eiweißgehalt voneinander unterscheiden. Es werden 150 ccm von klarem, filtrierten Serum unter einem Druck von 30–40 Atmosphären nach der Martinschen Methode (siehe oben Seite 121) filtriert. Das erhaltene Filtrat, von dem man die ersten durchgehenden Tropfen nicht benutzen darf, kommt in das Innenrohr, das kondensierte Serum in das Außenrohr des nachfolgenden Osmometers (Fig. 11).

Der Tubus BB des Osmometers (des Innenrohres) besteht aus Silbergaze und ist an beiden Enden mit einem Rohr aus Silber verbunden. Um den Gazeteil wird Peritonealmembran gewickelt, dieselbe mit 10% Gelatine-lösung überstrichen und dann eine zweite Peritonealmembran darüber gelegt.

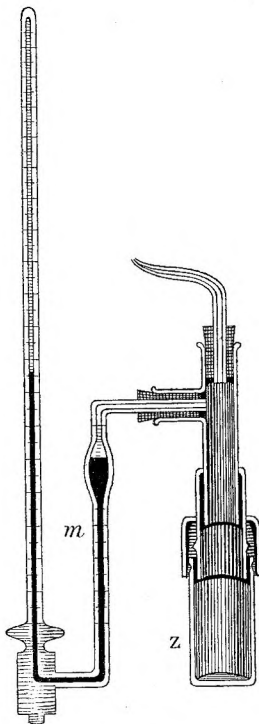


Fig. 10.

Das Rohr wird mit dünnem Faden ringsum umwickelt und $\frac{1}{2}$ Stunde in warme Gelatinelösung getränkt. Das fertige Rohr wird in das Außenrohr AA gebracht. Letzteres hat eine Öffnung zum Füllen und eine für das Hg-Manometer. Das Innenrohr ragt über die gedichteten Enden des Außenrohres heraus und ist vermittelst zweier Schläuche mit zwei kleinen Reservoiren verbunden. Um Verdunstung zu verhüten, werden die letzteren zugespült. Das ganze ist auf einer Einrichtung zum kontinuierlichen Hin- und Herbewegen montiert.

Nach 1–3 Tagen stellt sich ein konstanter Druckwert ein, es hat sich durch Diffusion der etwaige Unterschied in der Konzentration der diffiblen Bestandteile ausgeglichen und es bleibt nur noch der Unterschied des Kolloids (Eiweiß) auf beiden Seiten der Membran. Man kann auch von vorneherein in das mit dem Manometer verbundene Außenrohr unverändertes Serum oder eine andere Eiweißlösung bringen, in das Innenrohr das eiweißfreie Filtrat. Starling hat für die Serumeiweißkörper, da, wie oben auseinandergesetzt wurde, das Filtrat nach der Martinschen Methode sich vom

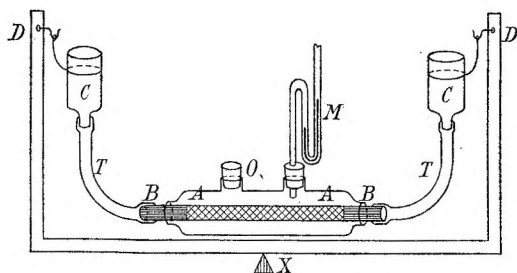


Fig. 11.

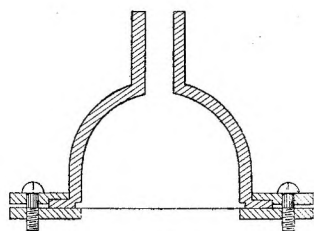


Fig. 12a.

ursprünglichen Serum nicht bloß durch das Fehlen von Eiweiß unterscheidet, einen zu hohen Wert gefunden. Starling selbst hat gefunden, daß gewisse Eiweißkörper (z. B. Kasein) selbst nach 2–3 Wochen nach seiner Methode keine konstante Werte geben, weil schwer diffusible anhaftende Substanzen nicht durch das Filter passieren, im Anfange im Osmometer zu hohe Werte liefern und nur ganz allmählich hindausdiffundieren.

Methode von Moore und Parker. Das Osmometer von Moore und Parker ist eine Modifikation des bekannten Osmometers von Dutrochet.

Die Form ist aus der Figur 12a ersichtlich. Um absolut dichten zu können, ist das Instrument aus Messing konstruiert; um jede chemische Wirkung auszuschließen, ist das Messing versilbert und innen vergoldet. Als Membran dient eine sehr dünne Pergamentmembran. Dieselbe wird zwischen zwei Flanschen vermittelst vier Schrauben festgeschraubt, unter Zwischenlegung von einem Gummiring. Selbst bei mehrwöchentlicher Dialyse zeigt die Außenflüssigkeit keine Spur von Eiweiß oder anderem Kolloid, wenn die Anlegung der befeuchteten Membran richtig geschah. Oben wird vermittelst eines dickwandigen Barometerrohrstückes von enger Bohrung mit dem Manometer verbunden; über das Rohr wird an einem Ende ein dickwandiger Gummischlauch gezogen. Die Dimensionen sind so gewählt,

daß mit einigem Druck das mit Schlauch überzogene Rohrende in den oberen Tubus des Osmometers dicht eingepaßt werden kann. Behufs Druckmessung wird ein Hg-Manometer angeschaltet. Die Anwendung von Pergamentpapier hat gegenüber von Gelatine den Vorzug, daß der osmotische Druck auch bei hohen Temperaturen bestimmt werden kann. Um mit diesem Osmometer richtige Werte des etwaigen osmotischen Druckes kolloider Lösungen erhalten zu können, würde Voraussetzung sein, daß die angewandte Membran für Wasser und alle etwaigen dem Kolloid anhaftenden Kristalloide absolut permeabel und nur für das Kolloid absolut impermeabel wäre. Das ist aber, was die Kristalloide anbetrifft, nicht der Fall. Die leicht diffusiblen diffundieren allerdings rasch und die Konzentration der Innen- und Außenflüssigkeit wird in bezug auf dieselben gleich; aber die schwer diffusiblen, nicht Kolloid Bestandteile, dieselben, welche bei der Fällung des Eiweißes mit gefällt werden (aus diesem Grunde geben Bestimmungen des osmotischen Druckes vor und nach Fällung des Eiweißes unrichtige Werte) bleiben auch nach langer Diffusionszeit im Osmometer. Um nun zu entscheiden, ob die geringen, aber immerhin merklichen Druckwerte, welche auch nach langer Diffusionszeit im Osmometer an Eiweißlösungen erhalten werden, herrühren vom Eiweiß selbst, wobei die nicht diffusiblen Aschebestandteile zum Eiweißmolekül selbst gehören würden, oder von den als Verunreinigungen zu denkenden Aschebestandteilen, haben Moore und Parker ein neues methodisches Verfahren angewandt. Sie versetzten die Innenflüssigkeit, nämlich Blutserum, mit so viel einer 10% Natriumhydratlösung, daß gerade eine 1% Lösung hiervon entsteht und kochen sie. Hierdurch werden die Eiweiße des Blutserums in Alkalialbuminat umgewandelt, bleiben also noch Kolloide, aber die Größe ihres Molekularaggregats wird geändert. Die Aschebestandteile des Eiweißes erleiden hierbei höchstens die Veränderung, daß sie leichter diffusibel werden; die Außenflüssigkeit wird auf gleichen Natriumgehalt gebracht, kleine Ungleichheiten gleichen sich durch Diffusion rasch aus. Die jetzt erhaltenen Werte (sie sind viel höher als vorher, z. B. Steigerung von 23 mm Hg Druck auf 100 mm) sind daher auf die jetzt kleiner gewordenen Kolloidmoleküle selbst zu beziehen, dementsprechend auch die früheren niedrigen Werte. Bei der praktischen Ausführung dieser Methode ist stets die Außenflüssigkeit am Ende des Versuchs auf Fehlen von Eiweiß zu untersuchen.

Eine neuere Form des Osmometers stammt von Moore und Roaf (Figur 12b). Das wesentliche ist aus der Figur verständlich. Jede Kammer faßt etwa 20 cm³, der Durchmesser beträgt 5 cm³, die Tiefe 1 cm³. In die obere Kammer kommt die zu untersuchende Kolloidlösung, welche mit einem Manometer kommuniziert. Zwischen Manometer und Osmometer ist ein T-Rohr eingeschaltet zur luftfreien Füllung. Die andere Kammer wird mit der Kristalloidlösung gefüllt. Ein etwaiger Unterschied gleicht sich rasch durch die große Oberfläche der trennenden für Kolloid undurchlässigen Membran aus. Die Verbindungen zeigt Fig. 12c.

Methode von Oker-Blom. Diese Methode zur Bestimmung des osmotischen Druckes der Eiweißkörper des Serums ist eine qualitative. In einige gleich weite Petrischalen werden 10 cm³ einer 5–10% warmen Gelatinelösung gegeben und gleichmäßig auf den ganzen Boden des Gefäßes

verteilt. Sobald die Gelatine festgeworden ist, werden darüber je 10 cm³ der zu prüfenden Flüssigkeit gegossen. In die eine Schale kommt normales Serum, in die andere enteiweißtes. Die Schalen werden mit ihren Deckeln verschlossen 20–24 Stunden stehen gelassen. Nachher wird die auf der Gelatine liegende Flüssigkeit abgegossen, die Oberfläche derselben mit reinem Wasser abgespült und dieses durch Schiefstellung der Schale zum möglichst

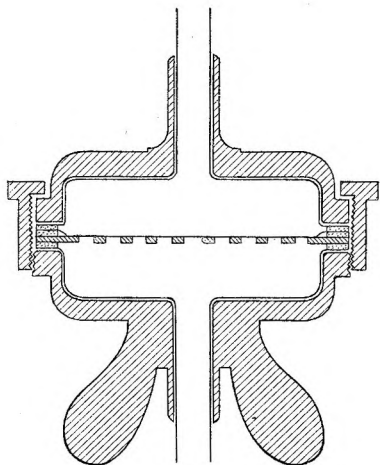


Fig. 12b.

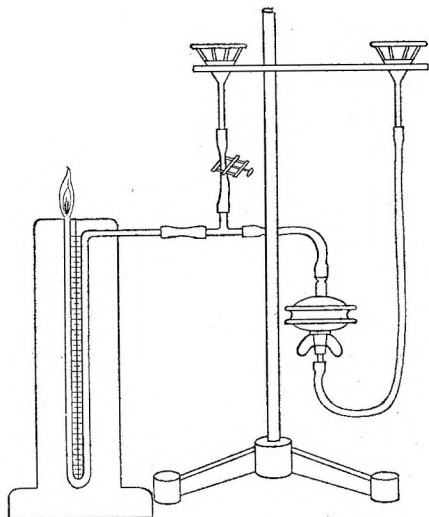


Fig. 12c.

gleichmäßigen Abfließen gebracht, sowie die Ränder des Gefäßes sorgfältig abgetrocknet. Die Schale samt ihren 10 cm³ Gelatine wird vor wie nach dem Versuch gewogen, wobei die Gewichts-differenz anzeigt, inwieweit die Gelatine von der darüber geschichteten Flüssigkeit etwas aufgenommen hat. Die Versuche ergeben, daß die Gelatine unter der eiweißfreien Lösung mehr an Gewicht zunimmt als unter der eiweißhaltigen, woraus auf einen osmotischen Druck des Eiweißes zu schließen ist. Allerdings gelten in bezug auf diese Methode einige der oben besprochenen Einwände.

Abteilung 2. Bestimmung des Gefrierpunkts von Lösungen und von Körperflüssigkeiten.

Theorie und Prinzip.

Gefrierpunkt einer Flüssigkeit ist diejenige Temperatur, bei welcher Flüssigkeit und Eis nebeneinander bestehen können. Der Gefrierpunkt des reinen Wassers ist 0°. Bei Lösungen findet eine Erniedrigung des Gefrierpunktes statt. Diese Erniedrigung ist proportional der molekularen Konzentration der Lösung, bei allen Elektrolyten (Salzen, Alkalien und Säuren) in wässriger Lösung proportional der Konzentration an Molekülen + Ionen. Letztere Konzentration, welche bei allen physiologischen Verhältnissen ausschließlich in Betracht kommt, bezeichnet Hamburger als osmotische

Konzentration. Da der osmotische Druck einer Lösung gleichfalls proportional der molekularen Konzentration, beziehentlich der osmotischen Konzentration, ist, gibt die Gefrierpunktserniedrigung auch Aufschluß über die Größe des osmotischen Druckes. Die Erniedrigung des Gefrierpunktes von Lösungen ist ein Ausdruck für die Tatsache, daß es einer Arbeit bedarf, um Lösungsmittel aus einer Lösung abzuschcheiden. Die Abscheidung von Lösungsmittel bedeutet eine Volumsverminderung; gegen eben diese Volumsverminderung leistet der osmotische Druck Widerstand, der durch eine Arbeit überwunden werden muß.

Bei Nichtelektrolyten erniedrigt jedes in 1000 gr Wasser aufgelöstes Grammolekül den Gefrierpunkt um 1.85° , bei dieser ist also, wenn Δ^0 den beobachteten Gefrierpunkt bedeutet

$$\frac{\Delta^0}{1.85} = \text{molekulare Konzentration.}$$

Bei in Wasser aufgelösten Elektrolyten beteiligen sich die nicht dissoziierten Moleküle und die dissoziierten Ionen an der Gefrierpunktserniedrigung, wie auch an dem osmotischen Drucke. Für diese ist

$$\frac{\Delta^0}{1.85} = \text{osmotische Konzentration} = \text{Konzentration Moleküle} + \text{Ionen.}$$

Die Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung an den Körperflüssigkeiten gibt somit die osmotische, nicht die molekulare Konzentration. Es sind beteiligt die Nichtelektrolyte, die ungespaltenen Elektrolyte und deren Ionen. Wenn, wie es gewöhnlich der Fall ist, die osmotische Konzentration in 1 Liter Lösung gesucht wird, so bedarf der obige für 1000 gr geltende Ausdruck einer Korrektur. Es sei S das spezifische Gewicht der Lösung, p das Gewicht der aufgelösten Substanzen, so sind in 1000 S gr Lösung 1000 S—p gr Wasser. Da in 1000 gr Wasser die osmotische Konzentration $= \frac{\Delta^0}{1.85}$ ist, ist im Liter Lösung $\frac{\Delta^0}{1.85} \cdot \frac{1000 \text{ S—p}}{1000} = \text{osmotische Konzentration.}$

Diese Korrektur kann vernachlässigt werden, wenn die Lösung verdünnt ist und die gelöste Substanz kein großes Molekularvolumen besitzt.

Beispiel: Die osmotische Konzentration eines Serums mit $\Delta^0 = 0.620$, einem spezifischen Gewicht von 1.0234, einem Eiweißgehalt von 62.7 und einem Aschegehalt von 9.05 pro Liter, hat ohne Korrektur den Wert 0.335, mit Korrektur 0.319 Mol pro Liter.

Die quantitativen Beziehungen zwischen Gefrierpunktserniedrigung und osmotischem Druck ergeben sich aus folgendem: Die direkte Messung des osmotischen Druckes mit dem Quecksilbermanometer ergab bei einer 1% Zuckerlösung 0.649 Atmosphären (Pfeffer), die entsprechende Gefrierpunktserniedrigung — 0.0546°. Es entspricht demnach — 0.001° Gefrierpunktserniedrigung einem Druck von 0.012 Atmosphären oder etwa = 9.1 mm Hg.

Der Theorie des osmotischen Druckes nach besteht zwischen der Gefrierpunktserniedrigung und dem osmotischen Drucke folgende Beziehung

$$P = \frac{1000 S w}{24.25} \frac{t}{T_0} \text{ Atm.}$$

wo S das spezifische Gewicht, w die in Kalorien ausgedrückte Schmelzwärme von 1 gr. Lösungsmittel, 24,25 den Faktor der Kalorien in Literatmosphären reduziert, To die Schmelztemperatur des Lösungsmittels und $t = T_o - T$ die Gefrierpunktserniedrigung bedeuten. Für Wasser ist

$$\frac{1000 S_w}{24,25 T_o} = \frac{1000 \times 79,6}{24,25 \times 273} = 12,03 \text{ also}$$

$$P = 12,03 t \text{ Atm.}$$

Die Theorie ergibt fast denselben Wert des osmotischen Druckes pro $\frac{1}{1000}$ Grad Gefrierpunktserniedrigung wie das Experiment.

Prinzip der Methode: Die zu untersuchende Flüssigkeit kommt in ein Gefäß, welches von einem Luftmantel umgeben ist; Gefriergefäß mit Luftmantel werden in ein Kältebad versenkt. In das Gefriergefäß taucht ein in $\frac{1}{100}$ Grade geteiltes Thermometer und ein Rührer aus Platin. Durch eine im Kältebad befindliche Kältemischung wird die Flüssigkeit unter Rühren abgekühlt bis zur Unterkühlung. Bei Ausscheidung von Eis steigt das Thermometer und der Stand des Quecksilbers bleibt eine Zeitlang auf einem bestimmten Grade, dem Gefrierpunkt der Lösung, konstant.

Je nach den Zwecken, die man bei der Bestimmung des Gefrierpunktes einer Lösung verfolgt, wendet man eine einfachere oder genauere Methode an.

A. Bestimmung des Gefrierpunktes mit dem Beckmannschen Apparate.

Der am häufigsten in der Physiologie angewandte Apparat zur Bestimmung des Gefrierpunktes, ist der von Beckmann, mit dem von Heidenhain angegebenen 100teiligen Thermometer. Da es sich in der Physiologie nur um wässrige Lösungen handelt, hat Heidenhain das Beckmannsche Thermometer dahin abgeändert, daß es einen festen 0-Punkt hat und ein Meßbereich von etwa + 1 bis - 5°. Das hat den Vorzug, daß die mühsame Einstellung des Quecksilberfadens aus einem oberen Reservoir wegfällt. Aber die Richtigkeit, beziehentlich die Abweichung des 0-Punkts der Skala von dem Gefrierpunkt des reinen Wassers muß fortwährend kontrolliert werden.

Von den gebräuchlichen Formen des Beckmannschen Apparates ist hier diejenige von Asher abgebildet (Fig. 13) und beschrieben. Die Größe des Thermometers T und des Kühlgefäßes K, welches in einem Luftmantel mit Platinrührer sitzt, ist so gewählt, daß im Kühlgefäß 6,5—7 cm³ Versuchsflüssigkeit Platz findet. Das Thermometer wird bei Nichtgebrauch durch den Halter h zur Seite in die Hülse h gestellt. (h in der Figur nicht sichtbar.) Der untere Hals des Thermometers ist so lang, daß die ganze Skala über dem Kühler zu stehen kommt. (Es werden manchmal Thermometer geliefert, wo dies nicht der Fall ist und daher die Ablesung erschwert wird.) Das Kältebad von etwas größerer Dimension besitzt zum leichten Herstellen der Kältemischung und raschem Wechseln der erforderlichen Temperatur des Außenbades seitlich zwei größere, durch Klappen verschließbare Öffnungen O, um bequem mit der Hand Eisstückchen, beziehentlich Salzlösungen bestimmter Konzentration und Eisstückchen einzubringen oder entfernen zu können. K ist ein mit Alkohol zu füllendes Vorkühlgefäß zum raschen Abkühlen des Gefriergefäßes in die Nähe des Gefrierpunkts. Der Nickelrührer R dient für die Kältemischung, der Heber H zum bequemen Entfernen der Bodenflüssigkeit. Der Untersatz U schützt den Tisch. Zum bequemen Transport des ganzen Apparates dienen die Handheber H.

Zuerst wird das Kühlgefäß mit der Kältemischung versehen. Als Kältemischung können dienen: 1. 3 Teile fein gestoßenes Eis, 1 Teil Kochsalz und so viel Wasser, daß die Temperatur -5° bis -3° beträgt. Je niedriger die Temperatur, desto rascher kann die einzelne Bestimmung ausgeführt werden, aber desto mehr weicht der beobachtete Gefrierpunkt von dem wahren Gefrierpunkt der Flüssigkeit ab. 2. 18 % Kochsalzlösung, in welche Eisstückchen eingetragen werden. Durch abwechselndes Zutun von Lösung, Eis und Wasser kann die Temperatur bis auf $\frac{1}{2}$ Grade ziemlich konstant gehalten werden. Die Kältemischung wird dauernd gerührt. Das Gefrierrohr wird mit reinem, destillierten Wasser bis zur Marke gefüllt¹⁾; der Stopfen mit dem Thermometer und dem Platinrührer werden eingesetzt. Das Thermometer darf den Boden des Gefrierrohres nicht berühren, sondern es muß der Quecksilbervorratsraum allseitig von Flüssigkeit umgeben sein. Der Rührer muß so stehen, daß er beim Rühren an das Thermometer nicht reibt. Man kühlt nun das Gefrierrohr mit dem Wasser durch direktes Einsetzen in die Kältemischung oder (beim obigen Apparat) in den mit Alkohol gefüllten Vorkühleraum bis auf 0° ab, trocknet das Rohr dann rasch von der anhaftenden Flüssigkeit ab, und setzt dann das Rohr in den Luftmantel ein. Die äußerliche Flüssigkeitsschicht muß ganz entfernt werden, weil eine sich außen bildende Eiskruste Fehler bedingt. Man rührt mit dem Rührer in einem möglichst konstanten Tempo, etwa unter Zuhilfenahme eines Metronoms einen bis zwei Hub pro Sekunde. Stützt man den Arm auf und hält den Rührer zwischen Zeigefinger und großen Finger und führt die Bewegung nur im ersten Fingergelenk aus, so kann das Rühren mit derselben Konstanz bewerkstelligt werden, wie durch ein automatisches Rührwerk. Sehr bequeme Rührwerke liefert Fr. Köhler (Universitätsmechaniker, Leipzig). Das Wasser unterkühlt sich langsam. Man leitet das Gefrieren ein durch Impfen mit einem Eiskriställchen bei etwa 0.5 bis 1° Grad Unterkühlung. Zu diesem Zwecke berührt man mit dem Impfstift den emporgezogenen Rührer durch den seitlichen Stutzen des Kühlrohres in der Weise, daß der Eiskristall an ihm haften bleibt. Der mit einem Wassertropfen beschickte

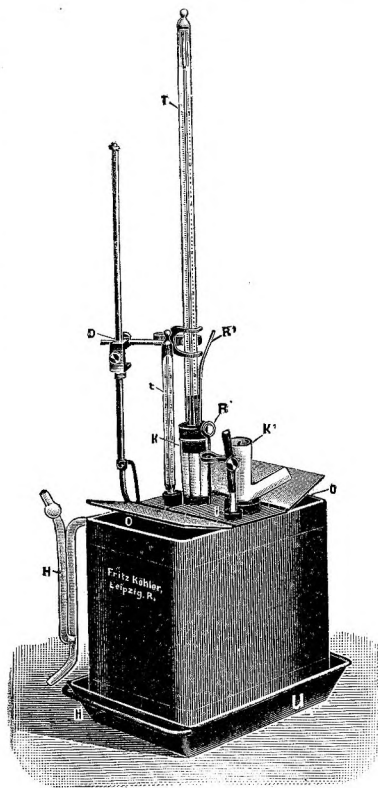


Fig. 13.

1) Nach Raoult gibt mit Luft gesättigtes Wasser richtigere Werte als ausgekochtes.

Impfstift wird innerhalb des Kältebades in seinem Gefrierrohre bereit gehalten. Dann wird langsam und gleichmäßig mit dem Rührer gerührt. Der Quecksilberfaden steigt im Thermometer plötzlich rasch in die Höhe, dann langsamer und erreicht allmählich einen höchsten Stand, auf dem er verharret. Dieser Stand entspricht dem Gefrierpunkt des Wassers. Später nach vollständigem Ausfrieren fällt die Quecksilbersäule wieder. Während der Ablesung empfiehlt es sich, das Thermometer ein paar mal schnell anzuklopfen. Man kann die ganze Prozedur nach Bedarf ein oder mehrere Male wiederholen, nachdem vorher im herausgenommenen Gefrierrohr das Eis durch Anwärmen mit der Hand geschmolzen worden ist.

Diese Bestimmung der Gefrierpunkterniedrigung von reinem Wasser dient bei dem Heidenhainschen Thermometer vor allem auch zur Kontrolle der Richtigkeit des 0-Punktes und sollte bei allen Versuchen, bei welchen es sich nicht um Vergleichen, sondern um Ermittlung absoluter Werte handelt, stets wiederholt werden.

Die im Vorkühlgefäß K' vorgekühlte in einer zweiten Kühlröhre befindliche und gleich hoch wie vorher reichende Lösung oder Körperflüssigkeit wird in der gleichen Weise untersucht. Die Temperatur des Außenbades muß die nämliche sein wie vorher; bei einer größeren Reihe von vergleichenden Bestimmungen ist auf diesen Punkt genau zu achten. Die Unterkühlung läßt man 0.5° bis 1° unter dem zu erwartenden Gefrierpunkt gehen und impft dann mit dem Eiskristalle. Durch eine vorläufige Bestimmung kann der Gefrierpunkt angenähert vorher ermittelt werden. Das Wiederaufsteigen des durch Unterkühlung gesunkenen Quecksilberfadens erfolgt nur bis zu einem unter 0 Grad gelegenen Skalenteil. Mit Hilfe der Lupe (oder einer von Fr. Köhler konstruierten Ablesevorrichtung, Katalog No. 1401, bestehend aus Lupe und Beleuchtungsglühlampe, verschiebbar an dem Thermometer angebracht), kann die Ablesung bis auf 0.001 — 0.002° genau gemacht werden. Hat man das Gefrieren durch Impfung mit einem Eiskriställchen eingeleitet, so muß bei der Wiederholung der Bestimmung mit einiger Vorsicht vorgegangen werden. Das Wiederauftauen der Flüssigkeit im Kühlrohre darf nicht bis zum vollständigen Verschwinden des Eises getrieben werden, da sonst wegen des Zusatzes von Eis eine Verdünnung der ursprünglichen Flüssigkeit eintreten würde. Es ist ratsam, jedesmal zwei oder drei Bestimmungen auszuführen.

Hamburger schlägt vor, am Ende der Versuchsreihe noch einmal den Gefrierpunkt des reinen Wassers zu bestimmen, da sich selbst während einer Versuchsdauer der Nullpunkt verschieben kann. Ferner hat derselbe Forscher zur Erhöhung der Genauigkeit vorgeschlagen, am Anfang und Ende einer Versuchsreihe den Gefrierpunkt einer reinen 1% NaCl Lösung zu ermitteln. Dieselbe beträgt -0.589° . Dieser Wert ist durch Interpolation aus Werten erhalten, welche durch die Präzisionskryoskopie gefunden wurden.

Hamburger bereitet seine Kochsalzlösung folgendermaßen: Chemisch reines Kochsalz wird zur Austreibung von Salzsäure und Wasser im Porzellantiegel stark erhitzt, 10 grm davon in der Luft abgewogen und in einem Kilogramm reinem destillierten Wasser aufgelöst. Diese Lösung hat bei 0° das spezifische Gewicht 1.007634 und enthält im Liter 9.9702 gr NaCl.

Die etwa erhaltene Abweichung vom Werte -0.589° dient zur Korrektur.

Präzisionskryoskopie.

Theorie.

Die soeben beschriebene Methode ist mit gewissen Ungenauigkeiten verknüpft, wodurch Abweichungen vom wahren Gefrierpunkt der Lösung erhalten werden, welche in das Gewicht fallen können, wenn es sich um genaue Molekulargewichtbestimmungen oder osmotische Konzentrationsbestimmungen in sehr verdünnten Lösungen, oder um die Ermittlung des osmotischen Druckes einer solchen Lösung handelt. Die Fehler werden bedingt 1. durch die Temperatur des Kältebades, 2. durch die Wärmebildung beim Rühren, 3. durch etwaige zu geringe Mengen angewandter Flüssigkeit, 4. durch die Tiefe der Unterkühlungstemperatur, ehe Gefrieren eintritt.

Nach der von Nernst und Abegg entwickelten Theorie über die Einstellung des Gleichgewichtes beim Gefrieren liegt die feste Einstellung des Thermometers nicht bei der wahren Gefriertemperatur T_0 , sondern bei einer mehr oder weniger davon verschieden scheinbaren Gefriertemperatur $= t^1$. Die Größe der Abweichung wird durch die Formel ausgedrückt

$$t^1 = T_0 \frac{k}{K} (t^1 - t_0);$$

t_0 ist diejenige Temperatur, der die Lösung zustreben würde, wenn kein Gefrieren stattfinden würde und wird als „Konvergenztemperatur“ bezeichnet. K ist eine Konstante, welche der Gesamtoberfläche des festen Lösungsmittels und seiner Schmelzwärme direkt proportional ist. k ist eine Konstante, die um so kleiner ist, je größer das Verhältnis von Wärmekapazität der Lösungsmasse zur Oberfläche ist. Die scheinbare fällt nur dann mit der wahren Gefriertemperatur zusammen, wenn

$$\text{oder } \frac{t_0}{K} = \frac{T_0}{\varphi} \text{ ist.}$$

Nach Raoult entspricht scheinbarer Gefrierpunkt t^1 dem Zeitmoment, wo die Abkühlungsgeschwindigkeit V , welche durch die Ausstrahlung nach dem Kältebad bewirkt wird, gleich ist der Erwärmungsgeschwindigkeit R , welche in der Eisbildung ihre Ursache hat.

Es sei K die Erwärmungsgeschwindigkeit durch Eisbildung, wenn die Überkaltung 1° beträgt, wenn nun $V=R$, so ist

$$V = K (T_0 - t^1)$$

$$T_0 = t^1 + \frac{V}{K}.$$

Das Korrektionsglied $\frac{V}{K}$ kann sehr klein gemacht werden, d. h. der scheinbare und der wirkliche Gefrierpunkt gleich werden, wenn entweder K sehr groß oder V sehr klein wird. V wird Null, somit auch $\frac{V}{K}$, wenn die oben definierte Konvergenztemperatur des Gefriergefäßes mit der Temperatur, bei der das Gefrieren stattfinden soll, zusammenfällt.

Die hierzu nötige Bestimmung der Konvergenztemperatur wird folgendermaßen ausgeführt (Raoult): Man bringt das Gefriergefäß in das

innere Rohr des Kältebades, bringt es auf die gewünschte Temperatur und erteilt dem Rührer eine gleichmäßige und bestimmte Geschwindigkeit. Man bringt das Kältebad auf fast dieselbe Temperatur, darauf wartet man, daß sowohl das Thermometer im Gefriergefäß, wie das im Kältebade einen regelmäßigen Gang annimmt. Steigt das Thermometer des Gefriergefäßes, so kühlt man das Kältebad langsam ab. Das Thermometer des Gefriergefäßes verlangsamt sein Ansteigen, steht darauf still und sinkt später. Der Moment, wo es stationär ist, zeigt einen ersten, ein wenig zu großen Wert für den Überschuß der Konvergenztemperatur über die Temperatur der Kältemischung. Um einen zweiten Wert dieser Größe zu haben, erwärmt man die Kältemischung sehr langsam. Das im Sinken begriffene Thermometer im Gefriergefäß verlangsamt sein Sinken, bleibt darauf einige Zeit stationär und steigt dann wieder. Das Mittel zwischen diesem etwas zu kleinen stationären Wert und dem früheren gibt die gesuchte Größe. Der Unterschied zwischen der Konvergenztemperatur und der Temperatur des Kältebades hängt vor allem von der Geschwindigkeit des Rührens ab.

Dadurch, daß die Konvergenztemperatur des Gefriergefäßes mit der Temperatur, bei der das Gefrieren stattfinden soll, zusammenfällt, eliminiert man nicht allein den Einfluß der Kältemischung, sondern auch den Einfluß der direkten Strahlung der Umhüllung auf das Thermometer. Es ist dann auch der Einfluß der Temperatur der Kältemischung vollständig eliminiert.

Während des Versuchs vergewissert man sich darüber, ob wirklich die Konvergenztemperatur mit der Gefriertemperatur zusammenfällt, indem man nach Eintreten des Gefrierens das Thermometer eine Viertelstunde lang alle 3—4 Minuten beobachtet. Die Temperatur muß konstant bleiben, was beweist, daß die Konzentration der Lösung sich nicht ändert, daß die Menge des entstandenen Eises unverändert bleibt, daß die Flüssigkeit weder Wärme verliert noch gewinnt.

Die Überkaltung der Lösung im Momente des Impfens ist von Einfluß auf die Menge von Eis, welche sich ausscheidet. Durch die Ausscheidung von Eis wird aber die Lösung konzentrierter als vorher, man erfährt also die Gefriertemperatur einer konzentrierten Lösung als die ursprüngliche. Die Menge (r), welche ausfriert, ist durch die Formel gegeben

$$r = \frac{c \vartheta}{\lambda},$$

wo c = spezifische Wärme der Flüssigkeit (für Wasser = 1°), ϑ die Überkaltung in Celsiusgraden, λ die Schmelzwärme des Eises = 80° ist. Für jeden Grad Überkaltung konzentriert sich bei wäßrigen Flüssigkeiten daher die Lösung um $\frac{1}{80} = 0.0125$.

B. Präzisionskryoskopie nach Raoult.

Der aus der Abbildung (Fig. 14) im wesentlichen verständliche Apparat von Raoult, welcher wohl der handlichste der für die Präzisionskryoskopie empfohlen sein dürfte, besteht aus einem Kältebad (B), welches mit Äther gefüllt ist, dem Gefriergefäß (C) und enthält Vorrichtungen zum Durchsaugen von Luft durch den Äther behufs Abkühlung und Rührwerk. Die Luft tritt durch das Chlorkalziumrohr und die Röhren o und r aus feinen Löchern in das Kältebad B ein und geht durch A zur Pumpe. Durch Regulieren der Geschwindigkeit des Luftstroms kann der Äther mehr oder weniger stark abgekühlt werden; hingegen kann durch Hineinpressen von zimmerwarmem Äther aus D die Tem-

peratur in B wieder erhöht werden. Das Kältebad ist behufs Isolierung in ein mit dickem Filz bekleidetes großes Glasgefäß eingesetzt. Das Kältebad B wird durch ein Gemenge von Gelatine und Glycerin gedichtet. Das Gefriergefäß trägt eine Marke,

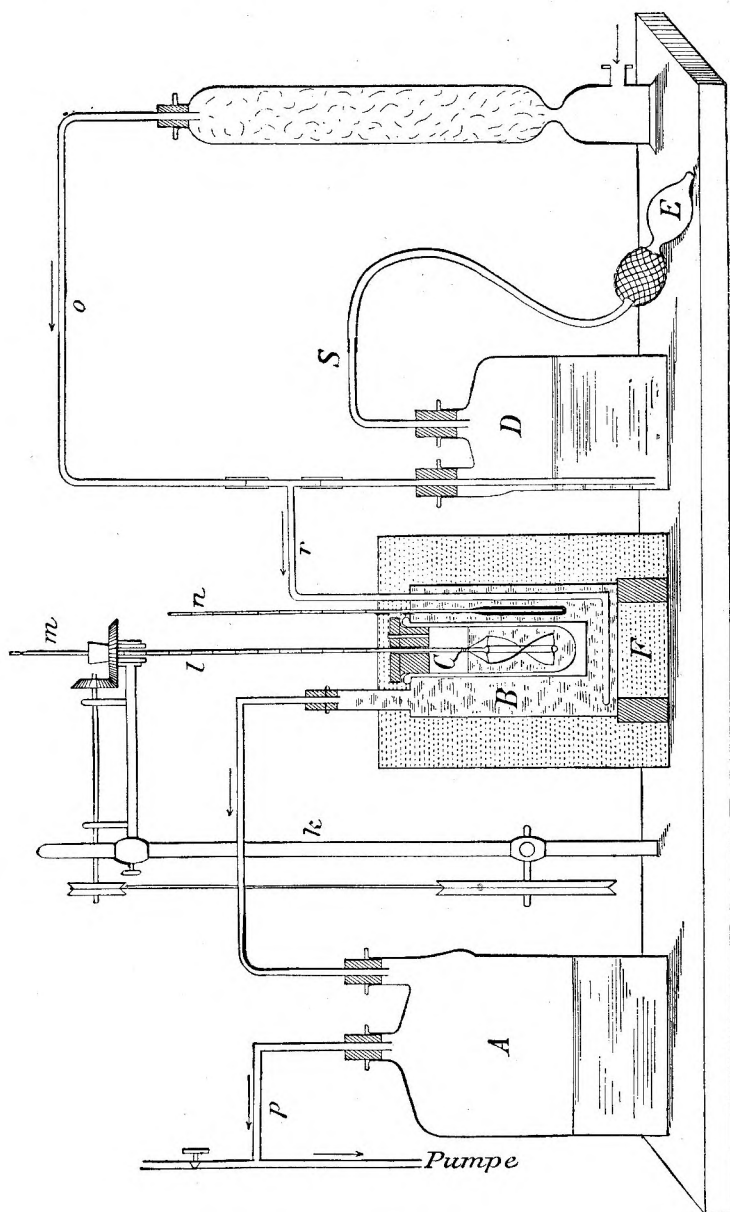


Fig. 14.

welche das Volum 125 cm^3 angibt, womit die Bestimmungen stets gemacht werden sollen. Das Gefriergefäß wird zur Isolierung nach dem Verstopfen mit 6 durchlochten großen Scheiben aus Tuch bedeckt. Der Rührer, ein Rotationsrührer, besteht aus einer

Schnecke aus Platinblech, welche das Gefäß des Thermometers umgibt und mit ihm zusammen rotiert. (Siehe Abbildung.) Der Rotationsrührer hat vor dem Rührer mit vertikaler Bewegung voraus, daß er die Eiskristallchen in der ganzen Flüssigkeit verteilt und deren Ansammlung an der Oberfläche verhindert und nicht mit der anders temperierten Luft außerhalb der Flüssigkeit in Berührung kommt.

Die Ausführung der Versuche ist nach Raoult folgende:

Gefrierpunkt des Wassers. Es ist nötig, anfangs den Gefrierpunkt von reinem Wasser zu bestimmen. Zu diesem Zwecke nimmt man ein Gefriergefäß und gießt 125 cem gewöhnlichen reinen Wassers hinein. Man verschließt das Gefäß mit einem großen, reinen und trockenen Gummistopfen und bringt es in ein Gefäß mit einem Gemenge von Eis und Wasser, wo es sich auf 0° abkühlt.

Währenddessen läßt man durch den Äther des Kühlmantels zwecks Abkühlung einen Strom trockener Luft durchstreichen. Sobald die Temperatur auf 5 oder 6° unter Null gesunken ist, nimmt man das Gefriergefäß mit dem auf 0° abgekühlten Wasser aus dem schmelzenden Eis, trocknet es mit Fließpapier und bringt es in das innere Rohr des Kältebades.

Darauf führt man von oben das Thermometerreservoir durch die Öffnung des horizontalen Zahnrades und befestigt daran den Platinrührer, nachdem derselbe zuvor ausgewaschen und ausgeglüht worden ist. Das System wird in das Gefriergefäß gesenkt und der konische Pfropfen, mit welchem das obere Ende des Thermometerstieles versehen ist, in die Öffnung des Zahnrades ohne besonderen Druck hineingesetzt. Das Gefriergefäß wird jetzt mit dem geteilten Stopfen, den man vorher gut gereinigt hat, verschlossen. Man bringt jetzt die sechs Tuchscheiben auf den Stopfen und vergewissert sich, daß der Thermometerstiel gut senkrecht steht. Endlich versetzt man das Thermometer in Rotation um seine Axe, indem man das System der Zahnräder mit Hilfe einer Turbine in Bewegung bringt. Anfangs läßt man das Thermometer nur mit einer mäßigen Geschwindigkeit rotieren, damit die Überkaltung nicht von selbst aufgehoben wird.

Wenn die Überkaltung des Wassers $0,5^{\circ}$ erreicht hat, wird das Kältebad rasch erwärmt, indem man einen Ätherstrom von mehr als $+ 10^{\circ}$ durchtreibt. Von Zeit zu Zeit wird ein starker Luftstrom durchgejagt, um die einzelnen Schichten gut durchzumischen. Dem mit Rührer versehenen Thermometer wird eine Geschwindigkeit von fünf Umdrehungen pro Sekunde erteilt und diese Geschwindigkeit während der Dauer des Versuchs genau eingehalten. Die Geschwindigkeit des Luftstroms wird jetzt verringert und so einreguliert, daß der Äther eine Temperatur annimmt, die um $0,1^{\circ}$ niedriger als der Gefrierpunkt des Wassers ist. Diese Temperatur wird auf ca. $0,02-0,03^{\circ}$ genau bis zum Ende des Versuchs konstant gehalten. Der Versuch zeigt, daß unter diesen Umständen im Moment des Gefrierens ein Temperaturgleichgewicht zwischen dem Kältebad und dem Inhalte des Gefriergefäßes vorhanden ist.

In diesem Moment notiert man genau den Stand des Gefrierthermometers und bringt in das zu untersuchende Wasser ein Eispartikelchen hinein. Das Thermometer steigt anfangs sehr rasch, darauf langsamer und stellt sich nach einigen Minuten stationär ein. Nach fünf Minuten wird die Temperatur notiert und alle 2—3 Minuten, während mindestens einer Viertelstunde, abgelesen.

Im allgemeinen sind diese Ablesungen bis auf $0,0002-0,0003^{\circ}$ identisch; sind sie nicht vollständig identisch, so nimmt man das Mittel. Man erhält auf diese Weise den Gefrierpunkt des reinen Wassers.

Zum Schlusse notiert man den Atmosphärendruck und die Temperatur der Luft in der Nähe der Mitte des aus der Flüssigkeit herausragenden Teiles des Thermometerstieles.

Wenn der Versuch beendet ist, so arretiert man den Rührer, nimmt das Thermometer aus dem Gefriergefäß heraus und hakt den Platinrührer vom Thermometer ab. Man vergewissert sich, daß der Rührer auf seiner ganzen Oberfläche mit Eiskristallen bedeckt ist; man nimmt das Thermometer fort, wäscht es mit kaltem Wasser und hängt es unmittelbar darauf in einen Eisschrank von 0° . Darauf entfernt man das Gefriergefäß, untersucht seinen Inhalt, wäscht es und trocknet es.

Gefrierpunkt der Lösung. Wenn der Gefrierpunkt des reinen Wassers, wie soeben beschrieben, gefunden ist, so bestimmt man auf die gleiche Weise den Gefrierpunkt der zu untersuchenden Lösung. Wie beim Wasser, so beträgt auch hier die Überkaltung 0.5° ; die Umdrehungsgeschwindigkeit des Thermometers ist ebenfalls fünf Umdrehungen pro Sekunde. Der ganze Unterschied besteht darin, daß die Temperatur des Kältebades im Moment des Gefrierens nicht 0.1° unter Null, wie beim Wasser, sondern 0.1° unter der Gefriertemperatur der Lösung ist. Diese letztere wird sehr angenähert durch einen Vorversuch festgestellt.

Wie beim Wasser beginnt man mit den Temperaturablesungen fünf Minuten, nachdem das Gefrieren hervorgerufen worden ist, und macht während mindestens einer Viertelstunde alle 2–3 Minuten eine Ablesung. Die einzelnen Ablesungen sollen Zahlen, die bis auf 0.0002 oder 0.0003° identisch sind, geben. Diese Konstanz beweist, daß unter den erwähnten Umständen die Menge des entstandenen Eises sich mit der Zeit nicht ändert, und daß folglich das Gefriergefäß weder Wärme aufnimmt, noch abgibt. Wenn es sich um sehr kleine Abweichungen handelt, so nimmt man das Mittel aus den gefundenen Zahlen. Man erhält auf diese Weise den Gefrierpunkt des flüssig gebliebenen Anteils der Lösung.

Um — bei sehr genauen Versuchen — den Einfluß der Luftdruck und Lufttemperaturveränderungen auf den Nullpunkt zu eliminieren, läßt man dem Versuch mit der Lösung eine zweite Bestimmung des Gefrierpunktes des Wassers folgen.

Sehr häufig gibt diese zweite Gefrierpunktsbestimmung von reinem Wasser eine Zahl, welche um 0.0002 – 0.0003° mit der Temperatur der ersten Bestimmung differiert. Man nimmt als Gefrierpunkt des Wassers das Mittel aus diesen beiden Werten an.

Mit Hilfe dieser Raoult'schen Methode der Präzisionskryoskopie läßt sich die Gefrierpunktserniedrigung verdünnter wässriger Lösungen mit einer Genauigkeit von 0.001° bestimmen. Mit dem hier nicht beschriebenen Apparate von Nernst und Abegg erhält man ein gleich genaues Resultat. [Eine Modifikation des Raoult'schen Apparates stammt von Ponsot].

C. Präzisionskryoskopisches Verfahren mit dem Beckmann'schen Apparat, mit besonderer Berücksichtigung der physiologischen Bedürfnisse.

Mit dem Beckmann'schen Apparate lassen sich auch die Anforderungen der Präzisionskryoskopie erfüllen. Beckmann hat seinen ursprünglichen Apparat den Bedürfnissen entsprechend modifiziert und unabhängig von ihm hat Th. Cohn das vereinfachte präzisionskryoskopische Verfahren zu biologischen Zwecken eingerichtet. Zunächst einmal wird das Rühren von einem elektromagnetischen oder mechanischen Rührer besorgt; ersterer ist vorzuziehen. Die hierzu nötigen Stromquellen und Unterbrecher sind sowie so in jedem physiologischen Laboratorium vorhanden. Die Konvergenztemperatur wird bestimmt, indem man das Kühlbad etwa 1 – 2° unter den voraussichtlichen Gefrierpunkt hält und die Temperatur ermittelt, bei der sich das Thermometer unter beständigem Rühren ohne Impfen einstellt. Die Flüssigkeit wird dann durch Einimpfen zum Gefrieren gebracht und der Gefrierpunkt auf diese Weise angenähert gefunden. Die Temperatur des Kältebades wird nun um die zwischen Konvergenztemperatur und Gefrierpunkt gefundene Differenz erhöht. An Stelle der äußeren Kühlflüssigkeit mit veränderlicher Temperatur können Kryohydrate mit konstanter Temperatur verwendet werden.

Tabelle von Kryohydraten.

Eis und Alaun	— 0.47
„ „ Natriumsulfat	— 0.7
„ „ Kaliumdichromat	— 1.0

Eis und Kaliumsulfat	— 1.5
„ „ Kupfersulfat	} — 2.0
„ „ Eisensulfat	
„ „ Kaliumnitrat	— 3.0
„ „ Zinksulfat	— 5.0

Das die Kryohydratmischung enthaltende Gefäß wird in ein größeres Gefäß gesetzt, in welchem sich die Kältemischung von etwas niedrigerer

Temperatur befindet. Zur Vorkühlung wird das Gefrierrohr in ein anderes Kältebad gebracht, dessen Temperatur 3° – $3,5^{\circ}$ unter der Gefrierpunkttemperatur liegt. Die Unterkühlung soll 1 – $1,5^{\circ}$ betragen, worauf das Gefrierrohr in das auf die korrigierte Konvergenztemperatur gebrachte Bad gebracht wird; nach 2 Minuten impft man. Zur Impfung werden kleine Stickperlen von 2,5–3 mm Durchmesser benutzt; diese kommen in ein im Kältebad stehendes Probierröhrchen, welches mit destilliertem Wasser gefüllt ist. Die kleine in der Sticköffnung befindliche Eismenge dient zum Impfen; sie ist wegen ihrer Lage vor raschem Schmelzen geschützt. Der elektromagnetische Rührer soll dann im selben Tempo rühren, wie bei der Bestimmung der Konvergenztemperatur. Nach Cohn darf auch die Feststellung des höchsten Hg-Standes nicht dem subjektiven Dafürhalten des Beobachters überlassen bleiben, vielmehr muß von einer neben dem

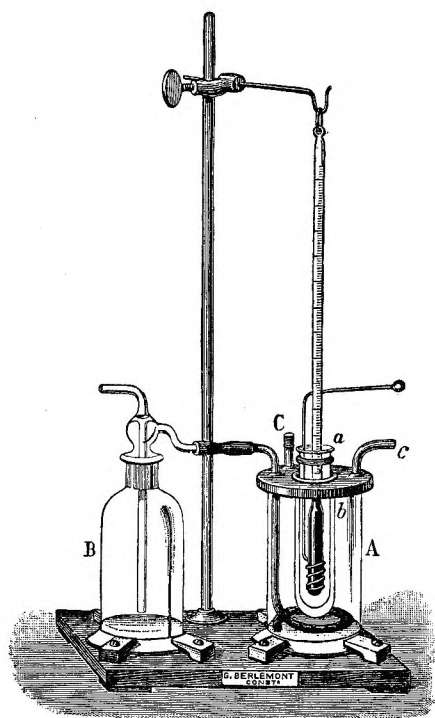


Fig. 15.

Apparat hängenden Sekundenuhr der Zeitpunkt der Impfung und alle 1–2 Minuten danach der jedesmalige Thermometerstand nach vorherigem Beklopfen des oberen Thermometerendes in der Richtung der Längsachse abgelesen und notiert werden, bis der höchste Punkt mit einer Konstanz von 3–4 Minuten erreicht ist; dazu braucht man durchschnittlich 7–10 Minuten, bei Wasser und wäßrigen Lösungen weniger, bei eiweißhaltigen, serösen Flüssigkeiten mehr. Der Konzentrationsänderung der Lösung durch Ausscheidung von Eis trägt man durch Benutzung der oben (S. 146) angegebenen Formel Rechnung. Cohn schlägt auch bei Anwendung dieser Methode vor, die Gefrierpunktserniedrigung einer 1% Kochsalzlösung zu bestimmen als Kontrolle der Genauigkeit; er erhielt hierfür den Wert -0.590° (Raoult und Abegg 0.589°).

Diese Methode vereinigt in sich praktisch die Anforderungen der Präzisionskryoskopie und die Möglichkeit, mit den in den meisten physiologischen Untersuchungen zur Verfügung stehenden Mengen (5 – 10 cm^3) auszukommen.

Nicht zu umgehen ist die Zeit, welche die Untersuchung beansprucht, nämlich 1—1½ Stunden für 3 Bestimmungen des Eispunktes und drei bis vier Bestimmungen der Lösung.

D. Apparat von Claude und Balthazard.

Ein einfacher Apparat, der sich gleichfalls der Ätherkühlung bedient, haben Claude und Balthazard angegeben. Derselbe ist aus beifolgender Figur verständlich (Fig. 15).

Derselbe eignet sich zwar nicht für die Präzisionskryoskopie, gestattet aber durch Regulation des Luftstromes durch den Äther die Temperatur des Kältebades konstant auf einem gewünschten Grad zu erhalten und liefert sehr brauchbare Resultate.

E. Methode von Prytz zur Bestimmung des Gefrierpunktes bei konstanter Temperatur.

Die Methode von Prytz geht von der Erwägung aus, daß der Gefrierpunkt einer Lösung definiert ist als die für Lösung und Eis gemeinsame Temperatur, bei welcher weder Gefrieren noch Schmelzen stattfindet, wenn Eis und Lösung zusammengebracht werden, vorausgesetzt daß kein Wärmeaustausch mit der Umgebung stattfindet. Ist die gemeinsame Temperatur zu hoch, so tritt Fall, ist sie zu tief, tritt Steigerung der Temperatur ein, während der Gefrierpunkt die für Eis und Lösung gemeinsame Temperatur ist, welche nicht durch das Zusammenbringen beider geändert wird.

Eine Messingröhre (Fig. 16) von 2,7 mm äußerem Diameter wird nach einer Schraubenlinie gebogen. In der obersten Windung der Röhrenspirale, welche 30 Windungen hat und ungefähr 18 cm lang ist, während der innere Diameter 1,6 cm groß ist, wird ein Beckmannsches in $\frac{1}{100}$ Grad eingeteiltes Thermometer so befestigt, daß sein Gefäß 1,5 cm über dem unteren Ende der Spirale steht. Das mit der Röhrenspirale versehene Thermometer wird in einem Dewarschen Gefäß mit versilberten Doppelwänden, D, so angebracht, daß die nach unten gekehrte Mündung der Spirale wenige Millimeter über dem Boden des Gefäßes steht. Das obere Ende der Messingröhre, welches sich ungefähr 2 cm unter dem Rande des Gefäßes befindet, wird mit einer Kautschukröhre nach oben fortgesetzt. Fein geschabtes, ziemlich trockenes Eis wird in das ca. 6 cm weite Gefäß hineingebracht und rings um die Spirale mittels eines Holzstäbchens mäßig fest gestampft; der kleine Abstand zwischen den Windungen hindert, daß das Eis in den Zwischenraum zwischen Thermometer und Spirale hineindringt. Nun wird die Lösung in die Röhrenspirale hineingesandt; sie tritt zuerst in das Eis am Boden hinein und steigt durch die oberen Eisschichten und durch den eisfreien Raum innerhalb der Spirale empor. Zuletzt erscheint die Lösung am Rande des Gefäßes. Die Strömungsgeschwindigkeit der Lösung ist so abzumessen, daß das Gefäß in 20—30 Minuten

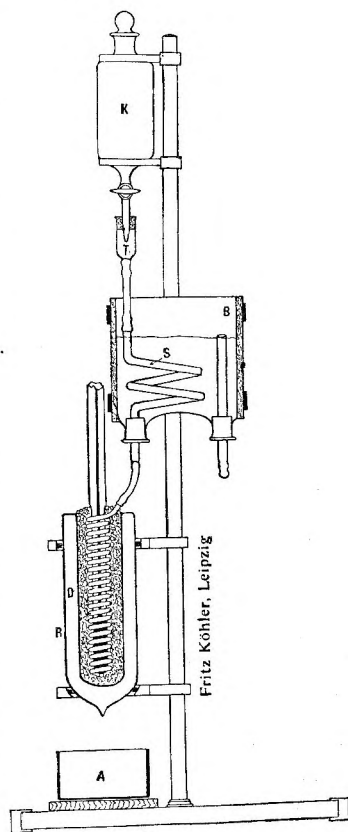


Fig. 16.

gefüllt wird. Nach der Füllung wird die Geschwindigkeit bis ca. 2 ccm pro Minute und nach weiteren 20 Minuten bis ca. 0,6 ccm hinabgesetzt. Die überschüssige Flüssigkeit geht über dem Rande des Gefäßes ab. Die Lösung strömt vom Behälter K aus; durch die Tropfenbildung in der Röhre r schätzt man die Geschwindigkeit, welche durch den Quetschhahn h reguliert wird. Im Bade B wird die Lösung ungefähr bis zu ihrem Gefrierpunkte vorgekühlt. Wenn das Eis mit der Lösung getränkt worden ist, wird schon die ganze Masse eine Temperatur haben, welche dem Gefrierpunkt sehr nahe liegt; diese Temperatur nimmt die ferner zuströmende Lösung in der Röhrenspirale an; indem sie in das Eis am Boden hineintritt, findet eine weitere Abkühlung statt, so daß die Temperatur dem Gefrierpunkt asymptotisch sich annähert. Beobachtet man das Thermometer während der Einstromung der Lösung, so findet man, daß die Temperatur anfangs schnell sinkt, so daß das Thermometer nach 12—15 Minuten bis auf wenige Tausendstel Grad seinen endlichen Stand angenommen hat; danach folgt ein äußerst langsamer Temperaturfall; 25—30 Minuten nach der Einfüllung der Lösung ist die Temperatur konstant geworden und hält sich so beliebig lange Zeit hindurch.

Der Apparat von Prytz gibt sehr genaue Resultate. Einer allgemeinen Anwendung zu physiologischen Zwecken steht der Umstand im Wege, daß man mindestens 80 cm³ Flüssigkeit braucht. Da, wo diese Mengen zur Verfügung stehen, wäre diese Methode sehr zu empfehlen.

Anwendung der Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung.

Die Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung dient, wie oben auseinandergesetzt wurde, zur Ermittlung der Konzentration und zur Ermittlung des osmotischen Druckes. Die Methode wird in zweierlei verschiedener Weise benutzt, ein Mal als eine relative, das andere Mal als eine absolute. Bei der Anwendung zur Erlangung von relativen Werten geht man von einer Ausgangslösung aus, entweder einer Körperflüssigkeit oder einer dem Körper künstlich zuzuführenden Flüssigkeit, ermittelt deren Gefrierpunktserniedrigung und darauf die im Verlaufe eines Experimentes eintretenden Veränderungen der Gefrierpunktserniedrigung. Man wird sich hierzu des Beckmannschen Apparates in der oben beschriebenen zu physiologischen Zwecken eingerichteten Form bedienen, erstens, weil er rascher und einfacher arbeitet, zweitens weil er nur geringer Mengen Flüssigkeit bedarf und drittens, weil die damit erhaltenen Werte, wenn man alle oben beschriebenen Vorsichtsmaßregeln innehält, hinreichend genau für vergleichende Zwecke sind. Bei jeder einzelnen Bestimmung kann der Fehler der einfachen Methode gegenüber der Präzisionskryoskopie annähernd gleich sein, so daß der Unterschied in den Gefrierpunktserniedrigungen, auf welche es hierbei ankommt, richtig ermittelt wird. Nicht hinreichend genau ist die Methode, wenn es sich nicht um Vergleiche, sondern um eine einzige absolute Bestimmung handelt. Hier wäre die Präzisionskryoskopie erforderlich unter Benützung aller Kautelen.

Oben in der theoretischen Einleitung wurde gezeigt, in welcher Weise durch die Gefrierpunktserniedrigung die molekulare Konzentration gefunden wird. Handelt es sich also darum, in einer Lösung von Nichtelektrolyten die molekulare Konzentration zu kennen, beziehentlich eine bekannte Konzentration herzustellen, so ist die Ermittlung der Gefrierpunktserniedrigung das einfachste und sicherste Verfahren. Bei den im Organismus vorkommenden Flüssigkeiten erfährt man, weil ausnahmslos Elektrolyte vorhanden sind, nur die osmotische Konzentration (siehe oben). Die Genauigkeit

dieser Bestimmung ist folgende: Δ^0 einer Kochsalzlösung von 1 ‰, d. h. von $\frac{1}{58}$ osmotischer Konzentration, ist 0,59. Wäre der Fehler der Bestimmung 0.01 Grad, so käme auf diesen Wert $\frac{1}{58 \times 59}$ osmotische Konzentra-

tion als Fehler oder in Prozenten (unter Nichtberücksichtigung der Dissoziation) 0.017 Proz. Kochsalzlösung. Der Fehler ist etwa der bei der chemischen Analyse von nicht sehr großer Genauigkeit vorkommender. Der auf Prozentgehalt berechnete Fehler ist bei einer Fehlergrenze von 0.01 bei einer Gefrierpunktsbestimmung bei Körpern von größerem Molekulargewicht z. B. bei Rohrzucker noch größer = 0.18 ‰. Insofern die in den tierischen Flüssigkeiten vorkommenden Mengen von Stoffen hohen Molekulargewichts der Art sind, daß sie selbst einen verschwindend kleinen Einfluß auf die Gefrierpunktserniedrigung ausüben (z. B. beim Serum), ist die Ermittlung der osmotischen Konzentration mit Hilfe der Gefrierpunktserniedrigung eine zuverlässige, umso mehr als verschiedene Untersucher (z. B. Hamburger und Th. Cohn) unter Berücksichtigung der Ergebnisse der Präzisionskryoskopie, eine Genauigkeitsgrenze von 0.0025 erhielten. Die Genauigkeit läßt sich namentlich auch erreichen bei Anwendung des Beckmannschen Apparates in seiner neuen Form (siehe oben) mit Flüssigkeitsmengen von 10—5 cm³. Nicht sehr groß ist die Genauigkeit, mit welcher, wie oben gezeigt wurde, der osmotische Druck aus der Gefrierpunktserniedrigung ermittelt werden kann. Denn selbst die besten in der Physiologie möglichen Methoden können nicht über 0.001⁰ Genauigkeit geben, das ist aber = 9.1 mm Hg Druck, ein Wert, der mit einem Manometer sehr leicht meßbar ist. Diese geringe Genauigkeit ist ein Grund (neben den früher auseinandergesetzten), weshalb der osmotische Druck von Substanzen mit sehr hohem Molekulargewicht, insbesondere also der Kolloide, mit Hilfe der Gefrierpunktserniedrigung sich nicht genau ermitteln läßt. Aus demselben Grunde ist ein aus der Gefrierpunktserniedrigung gefundener Wert des osmotischen Druckes zu Rückschlüssen bei den im Organismus sich abspielenden Prozessen nur in beschränktem Maße zulässig. Hierzu kommt noch, daß die Gefrierpunktserniedrigung nur Aufschluß gibt über den osmotischen Druck der Lösung bei ihrem Gefrierpunkte; der osmotische Druck bei Körpertemperatur ist ein höherer und der Temperaturzuwachs läßt sich wegen der Zusammensetzung der Körperflüssigkeiten aus Elektrolyten und Nichtelektrolyten nicht aus den Daten der Kryoskopie berechnen.

Wertvoll ist die Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung bei allen physiologischen Untersuchungen, bei denen es sich um die Beziehungen zwischen zwei durch eine Membran getrennte Flüssigkeiten handelt, z. B. einerseits das Blut, andererseits die Lymphe, oder ein Sekret oder ein Exkret oder ein Transsudat, oder eine künstlich eingeführte Flüssigkeit. Es kommt hierbei darauf an, erstens den kryoskopischen Unterschied zwischen dem Blut und einer der genannten Flüssigkeiten, und zweitens die Größe und Richtung der Veränderung des Gefrierpunktes bei experimentellen Eingriffen in beiden festzustellen.

Die Daten über die osmotische Konzentration, welche hierbei erhalten werden, geben darüber Aufschluß, ob und in welchem Umfange osmotische

Vorgänge bei den untersuchten physiologischen Prozessen im Spiele sind oder ob entgegen den osmotischen Kräften Arbeit geleistet wurde.

Berechnung der geleisteten osmotischen Arbeit aus der Gefrierpunktserniedrigung.

Dreser erkannte zuerst, daß auf Grund der van't Hoff'schen Lösungstheorie aus den Gefrierpunktserniedrigungen des Blutes und eines aus dem Blute entstehenden Sekretes (Harn) die osmotische Arbeit berechnet werden könnte, welche bei der Herstellung des betreffenden Sekretes geleistet wird. Darauf folgten Galeotti und v. Rhorer. Unterschied im Gefrierpunkt bedeutet Unterschied in der osmotischen Konzentration; diesem Unterschied entspricht wiederum ein Unterschied im osmotischen Druck. Im Falle von Konzentrationsdifferenz ist der osmotische Druckunterschied bestrebt, diesen auszugleichen; die Existenz des Unterschiedes ist ein Beweis dafür, daß gegen die Kraft des Druckunterschiedes eine Arbeit geleistet worden ist. Der Ansatz, welcher auf Grund der Lösungstheorie (Gültigkeit der Gasgesetze für Lösungen) für die Berechnung der Arbeit zu machen ist, ist folgender: Um aus einer weniger konzentrierten Lösung eine mehr konzentrierte zu machen oder, anders ausgedrückt, um das Volumen einer gegebenen Lösung auf einen niedrigeren Betrag zu komprimieren, ist Arbeit notwendig; ebenso ist Arbeit notwendig, um aus einer konzentrierten eine weniger konzentrierte zu liefern, indem gegen die Wirkung des osmotischen Druckes Wasser aus der konzentrierten in die verdünntere Lösung gepreßt werden muß; dieses Verhalten läßt sich demnach wie das vorige zurückführen auf den Fall der Kompression einer Lösung von einem größeren zu einem kleineren Volum. Die Formel für diese Arbeit ist:

$$A = RT \log_{\text{nat}} \frac{v_1}{v_2} = 2.303 RT \log \frac{v_1}{v_2} = 2.303 RT \log \frac{A_2^0}{A_1^0}$$

$$(\text{es ist } \frac{v_1}{v_2} = \frac{c_2}{c_1} = \frac{p_2}{p_1} = \frac{A_2^0}{A_1^0};$$

$$R = 0.0821 \text{ Literatmosphären} = 1.991 \text{ Kal} = 0.848 \text{ Meterkilogr.}).$$

$$\text{Für } T = 37^0$$

$$\text{ist } A = 58,61 \log \frac{A_2^0}{A_1^0} \text{ Literatmosphären} = 1427,4 \log \frac{A_2^0}{A_1^0} \text{ Grammkalorien} = \\ 605,5 \log \frac{A_2^0}{A_1^0} \text{ Meterkilogramm.}$$

Diese Formel gilt für den Fall, daß in der hergestellten Lösung im Volumen 1 Mol. osmotische Konzentration vorhanden ist; das wird im allgemeinen nicht der Fall sein; die osmotische Molkonzentration wird aus der Gefrierpunktserniedrigung gefunden und ergibt sich zu $n = \frac{A^0 v_2}{1,85}$, wo v_2 das Volumen des gebildeten Sekretes ist. Demnach lautet die Formel

$$A = \frac{A^0 v_2}{1,85} 58,61 \log \frac{A_2^0}{A_1^0} \text{ Literatmosphäre u. s. w.}$$

Die Werte, welche man mit Hilfe dieses Ansatzes erhält, sind aber nicht genau. Erstens müßte man, wie v. Rhorer gezeigt hat, die partiellen Konzentrationen der Sekretbestandteile kennen und für diese einzeln die

Rechnung durchführen. Berechnet man z. B. die osmotische Arbeit bei der Harnbereitung auf Grund der Kochsalz- und Harnstoffgehalte eines bestimmten Harnes, so bekommt man viel größere Werte. Die partiellen Konzentrationen der Sekrete sind nur zum Teil bekannt. Zweitens bleibt bei der Bildung eines konzentrierten Harnes aus dem weniger konzentrierten Blute Wasser im Blute zur Verdünnung des Blutes übrig. Diese Tatsache kann man auch so ausdrücken, daß man sagt, die im Blute gelösten Moleküle dehnen sich bei einem konstanten Druck ($0,56^{\circ} \text{ } ^{\circ}$) auf ein größeres Volumen aus, was einen entsprechenden Arbeitsgewinn ausmacht. Dieser Arbeitsgewinn muß von der oben berechneten Arbeit abgezogen werden. Drittens, bei der Bildung eines Sekretes geringerer Konzentration als das Blut gehen feste Bestandteile vom Blut in das Sekret, also vom Ort hoher zu niedriger Konzentration über, wodurch Arbeit verrichtet wird, die von der osmotischen Arbeit der Drüse abzuziehen ist. (Das nähere siehe bei v. Rhorer.) Viertens gelten die zugrunde gelegten Formeln für den Spezialfall, daß die Arbeit isotherm verrichtet wird. Dieser Spezialfall ist nicht im Organismus streng verwirklicht, da in vielen Drüsen Wärme gebildet wird. Schließlich muß betont werden, daß auf dem geschilderten Wege nur die osmotische Arbeit einer Drüse, nicht aber die Gesamtarbeit gefunden wird.

Die Bestimmung der Gefrierpunkterniedrigung irgend einer dem tierischen Organismus entstammenden Flüssigkeit ohne Vergleich mit einer anderen kann ferner angewendet werden, wenn die normale osmotische Konzentration mit hinreichender Sicherheit bekannt ist. Für einige ist das der Fall, z. B. für das Blut. Sollen diese Bestimmungen einen Wert haben, so müssen sie mit einer Methode gemacht werden, welche den Anforderungen der Präzisionskryoskopie genügen.

Abgesehen von den hier genannten Fällen gewinnt die Bestimmung der Gefrierpunkterniedrigung erst Wert in Verbindung mit anderen, später folgenden Methoden. Vor Überschätzung einer bloßen Gefrierpunktsbestimmung muß gewarnt werden; sie leistet oft nicht mehr, manchmal weniger als die chemische Bestimmung gewisser Bestandteile der Körperflüssigkeiten.

Anwendung der Gefrierpunktsbestimmung im einzelnen.

1. Blut. Zur Gefrierpunktsbestimmung des Blutes kann man Serum, defibriniertes oder Gesamtblut benutzen. Die bisher mit genauesten Methoden gewonnenen Werte ergeben Unterschiede des Gefrierpunktes, welche als innerhalb der Fehlergrenzen der Methode liegende kaum zu berücksichtigen wären; zudem haben Hamburger und Hedin nachgewiesen, daß defibriniertes Blut und entsprechendes Serum äquimolekular sind. Die Benutzung von Serum, wo angängig, ist vorzuziehen, weil der Ausgleich zwischen Eis und Flüssigkeit sich leichter herstellt und man die Eisbildung im durchsichtigen Serum besser verfolgen kann. Hingegen ist die Art der Gewinnung des Blutes auf den Gefrierpunkt von Einfluß; die Präzisionskryoskopie zeigt Unterschiede zwischen dem spontan abgesetzten und dem durch Zentrifugieren gewonnenen. Ferner ergeben sich Unterschiede zwischen arteriellem und venösem Blute; letzteres ist konzentrierter. Da in einer Flüssigkeit gelöste Gase wie andere gelöste Bestandteile Einfluß auf die Gefrierpunkterniedrigung haben, hat auch jeder Eingriff, der den Gehalt des Blutes an

gelöstem Gas verändert, Folgen für die Gefrierpunktserniedrigung des betreffenden Blutes. Narkose und Vergiftungen sind in dieser Beziehung zu berücksichtigen. Die Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung am menschlichen Blute ist vor allem aus praktischen Gründen eingehend diskutiert worden. Die praktische Seite muß hier übergangen werden. Wo diese Bestimmung in der Physiologie angewandt wird, gelten dieselben Vorschriften wie für die klinische Verwertung. Meist wird es sich darum handeln, ob eine Abweichung vom normalen Gefrierpunkt vorkommt oder nicht. Deshalb muß die Bestimmung mit Hilfe der Präzisionskryoskopie gemacht werden. Dann muß vor Gewinnung des Normalwertes, wie Cohn gezeigt hat, auf die gleichmäßige Einrichtung der Lebensweise der Individuen geachtet werden. (Beobachtete Schwankungen zwischen -0.517° und -0.562° .)

2. Harn. Der zu Gefrierpunktuntersuchungen dienende Harn ist entweder ein unter gewissen Experimentalbedingungen aus Fisteln gewonnener oder eine Portion eines Tagesharnes. Für den letzteren gilt, wie bei Stoffwechselversuchen, daß der gesamte, einer 24 stündigen Versuchsperiode entstammende Harn gut gemischt werde. Die vorausgegangene Ernährung und Flüssigkeitsaufnahme ist in Rücksicht zu ziehen. Der Harn soll, wegen seiner leichten Zersetzungsfähigkeit, möglichst rasch in Arbeit gezogen werden. Wird die Bestimmung des Δ° des Harns nach einer der einfacheren Methoden gemacht, so beobachtet man öfters, daß mehrere hintereinander gewonnenen Werte nicht so gut übereinstimmen, wie z. B. beim Blute. Dies rührt daher, daß öfters der Harn nicht mehr eine sehr verdünnte Lösung ist, deren Konzentrationsänderung durch die Eisausscheidung eine nicht zu vernachlässigende Veränderung erleidet. Es ist daher nach Möglichkeit bei konzentrierten Harnen dafür zu sorgen, die Eisausscheidung bei jeder Einzelbestimmung gleich groß zu machen.

Die Gefrierpunktserniedrigung des Harnes wird in Beziehung gesetzt zu einer Reihe von auf anderen Wegen gewonnenen Werten. Es sind folgende: 1. $\frac{\Delta \times \text{Urinmenge}}{\text{Körpergewicht}}$, die sogenannte „diurèse moléculaire totale“ (Claude u. Balthazard), 2. $\Delta \times \text{Urinmenge}$, Moleculardiurese oder „Valenzwert“ (Strauß), 3. das Verhältnis $\frac{\Delta^{\circ}}{\text{NaCl}}$ (Koranyi), 4. $\frac{\Delta \times \text{Urinmenge}}{61,3}$, der von v. Koranyi als Kochsalzäquivalent bezeichnete Wert, worin 61,3 die mit 100 multiplizierte Gefrierpunktserniedrigung einer 1 % NaCl Lösung ist, 5. das Verhältnis $\frac{\Delta}{\text{spez. Gew.}}$, 6. das Verhältnis $\frac{\Delta}{N}$, wobei der Stickstoffgehalt prozentisch ausgedrückt wird. Die Gewinnung dieser Werte bedarf nach der methodischen Seite hin keiner Beschreibung. Die Diskussion der Bedeutung dieser Werte ist nicht Sache der Methodik und findet sich in der einschlägigen Literatur.

3. Milch. Nach der methodischen Seite hin ist bei der Gefrierpunktbestimmung der Milch zu bemerken, daß darauf zu achten ist, daß beim Rühren keine Schaumbildung eintritt. Bei der Kryoskopie der Milch ist öfters eine spontane Eisbildung schon bei sehr geringer Unterkühlung zu beobachten. Die Gewinnungsart und Zeit, sowie die sonstige Beschaffenheit

(Vollmilch oder Magermilch) sind zu berücksichtigen. Da eine ziemliche Übereinstimmung über den konstanten Wert der Gefrierpunktserniedrigung der normalen Milch herrscht (Isotonie mit dem zugehörigen Blutserum) ist die Kryoskopie ein gutes Mittel, um einerseits Zusätze von Wasser oder fester Bestandteile zu erkennen, andererseits, um Veränderungen der Sekretionsverhältnisse zu untersuchen.

4. In betreff der übrigen Flüssigkeiten des tierischen Organismus bedarf es außer des Hinweises auf das im Teil I über die Gewinnung gesagten keiner besonderen Angaben.

5. Kryoskopie von Organen. An Organstücken ist die Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung von Sabbatini und von Fredericq ausgebildet worden. Ein Stückchen frisches Gewebe wird in kleine Stückchen zerschnitten oder zu Brei zerrieben. Der Brei wird in das Gefrierrohr des Beckmannschen Apparates gebracht. Das Gefrierrohr wird zunächst in einem Kältebad von -3° bis -5° auf 0° abgekühlt und dann in den Luftmantel des Beckmannschen Apparates eingesetzt. Wenn die Temperatur etwa $\frac{1}{2}$ Grad unterhalb des erwarteten Gefrierpunktes gesunken ist, impft man mit einem Eiskristallchen. Man rührt mit einem Rührer und liest den höchsten Stand des Thermometers ab. Einer großen Genauigkeit ist natürlich diese Methode nicht fähig, gibt aber immerhin verwertbare Aufschlüsse.

Eine andere Methode besteht darin, daß aus den Geweben ein wäflriger Extrakt hergestellt wird, welches dem Gewebesaft entsprechen soll. Zu diesem Zwecke werden 30 bis 50gr. frischer Gewebe in kleine Stückchen zerschnitten und in 4 bis 8 Reagensgläser verteilt; dort sollen sie vom Boden eine Säule von 4 bis 5 Zentimeter Höhe bilden. Die Reagensgläser werden fest mit einem Kautschukstopfen verschlossen und einige Minuten lang in kochendes Wasser gehalten. Nach dem Erkalten preßt man die Stückchen mit einem abgerundeten Glasstab noch aus, mischt die Flüssigkeit durch Hin- und Herfließenlassen an den Glaswänden und filtriert schließlich. Der klare Saft wird kryoskopiert. Man erhält dieselben Werte wie mit den Organstückchen selbst. Nicht alle Gewebe eignen sich zum Auspressen, z. B. nicht das Gehirn, die Leber und die Milz vom Hund.

Abteilung 3. Bestimmung des osmotischen Druckes und der osmotischen Konzentration mit Hilfe des Tensimeters.

Prinzip: Der Dampfdruck eines Lösungsmittels wird durch darin gelöste Stoffe vermindert und zwar ist diese Verminderung proportionell der Menge gelösten Stoffes. Da die relative Dampfdruckverminderung jeder Lösung gleich dem Verhältnis zwischen der Zahl der Mole des gelösten Stoffes und der Gesamtzahl der in der Flüssigkeit enthaltenen Mole ist, läßt sich aus jener das Molekulargewicht der gelösten Substanz sowie die molekulare, beziehentlich bei Elektrolyten, die osmotische Konzentration ermitteln. Für verdünnte Lösungen gilt:

$$m = \frac{g \cdot M \cdot p}{p - p_1 \cdot G}, \text{ wo } m \text{ das Molekulargewicht der gelösten Substanz, } M \text{ das}$$

jenige des Lösungsmittels, $\frac{p}{p - p_1}$ die relative Dampfdruckerniedrigung, g das Gewicht des gelösten Stoffes, G das Gewicht des Lösungsmittels ist.

Kennt man die Dampfdruckerniedrigung einer Lösung von bekannter Molenzahl, so kann man, wie aus der Gefrierpunktserniedrigung, in jeder Lösung mit dem gleichen Lösungsmittel durch Division der jeweilig gefundenen Dampfdruckerniedrigung in die molekulare Dampfdruckerniedrigung die Mol beziehentlich die osmotische Konzentration finden. Die Dampfdruckerniedrigung einer Lösung steht im Zusammenhang mit ihrem osmotischen Drucke; sie ist ein Anzeichen dafür, daß zur Trennung von Lösungsmittel und gelöster Substanz Arbeit gegen den osmotischen Druck geleistet werden muß. Aus der Dampfdruckverminderung einer Lösung läßt sich ihr osmotischer Druck nach folgender Formel berechnen

$$P = \frac{p - p^1}{p} \frac{0.0821 T 1000 S}{M_o} \text{ Atm.,}$$

worin p der Dampfdruck des reinen Lösungsmittels, p^1 derjenige der Lösung, T die absolute Temperatur, S das spezifische Gewicht und M_o das Molekulargewicht der gelösten Substanz, 0.0821 die Gaskonstante sind.

Physiologische Anwendung: Die tensimetrische Bestimmung der Konzentration und des osmotischen Druckes haben da, wo sie bisher angewandt wurden, gute Resultate gegeben, sie ist aber in der physikalischen Chemie keine sehr häufig geübte. Die Gründe hierfür sind, daß der Dampfdruck sehr von der Temperatur abhängig ist, der Apparat aber bei absoluten Messungen in einem sehr gut regulierbaren Thermostaten gehalten werden muß, ferner daß sehr geringe Mengen flüchtiger Bestandteile in einer Lösung den Dampfdruck stark beeinflussen und schließlich, daß die physikalische Chemie in der Methode der Siedepunktsbestimmung ein vorzügliches Mittel besitzt auf dynamischem Wege die Dampfdruckerniedrigung festzustellen. Für die Physiologie hat aber die tensimetrische Methode eine Reihe von Vorzügen, die ihre weitere Ausbildung erwünscht machen. Es kann der osmotische Druck einer Lösung bei den im Organismus vorkommenden Temperaturen untersucht werden, und nicht bloß, wie bei der Kryoskopie, bei der Gefriertemperatur der Lösung; es sind zur Bestimmung nur geringe Flüssigkeitsmengen erforderlich, beispielsweise im Friedenthalschen Differentialtensimeter eventuell nur 0,2 cm³; schließlich hat Friedenthal darauf aufmerksam gemacht, daß ein besonderer Vorzug der Tensionsmessung gegenüber der Kryoskopie darin liegt, daß bei Veränderungen des osmotischen Druckes ohne Unterbrechung der Gang der Änderung am Manometer abgelesen werden kann. Diesem Vorteil steht allerdings der Nachteil gegenüber, daß zur Bestimmung der Dampfdruckerniedrigung sorgfältig die letzten Spuren gelöster Gase aus der Flüssigkeit entfernt werden müssen. Bei denjenigen Flüssigkeiten des tierischen Organismus, welche Gase enthalten, muß bei genauen Messungen eine noch nicht hinlänglich gesicherte Korrektur angebracht werden.

Differentialtensimeter von Friedenthal.

Friedenthal hat für physiologische Zwecke ein Differentialtensimeter konstruiert, welches durch Neigen des Manometerrohres jede gewünschte Empfindlichkeit einzustellen gestattet. Der Winkel α , welchen das Manometerrohr mit dem Horizont bildet, ist an einer Skala mit Nonius ablesbar. Wenn h der an der Skala des Manometerrohres abgelesene Skalenteil ist,

d das spezifische Gewicht der Manometerflüssigkeit (Quecksilber oder Rüböl), α der Neigungswinkel, so ist der Druck $p = pd \sin \alpha$. Die Handhabung des Differentialtensimeters ist folgende: Das Tensimeter wird von seinem Metalllager abgeschraubt und in den Glasschliff einer Toeplerschen Luftpumpe eingehängt. Durch Füllen des Glasgefäßes, welches den Schliff umgibt, mit Quecksilber wird die Dichtung zu einer absoluten gestaltet. Vor dem Gebrauch wird das Manometerrohr mit der Sperrflüssigkeit gefüllt, eine geringe Quantität der auf ihren osmotischen Druck zu untersuchenden Flüssigkeit mit einer dünnen Pipette in die Glaskugel F eingeführt, während eine gleiche Quantität konzentrierte Schwefelsäure mit Phosphorsäureanhydrid in die benachbarte Glaskugel ebenfalls mit einer Pipette gebracht wird. Die zur Einführung der Flüssigkeit geöffneten Glasschliffe werden eingedreht mit geschmolzenen Paraffin luftdicht verkittet. Die aus dem Tensimeter ausgepumpten Gase müssen, ehe sie in die Luftpumpe gelangen, zum Trocknen durch eine Vorlage mit P_2O_5 gehen; Feuchtigkeit würde das Vakuum verschlechtern. Nachdem ein Vakuum erzielt worden ist, wird das Tensimeter nach Schluß der Hähne bei e abgenommen und auf seinem Stativ befestigt. Diese Hähne sind durch Quecksilberringe gegen das Eindringen von Luft gesichert. Durch Zuschmelzen der kleinen Glasstutzen mit Paraffin wird das Hinauslaufen des Quecksilbers aus den Ringen der Hähne verhindert. Das Tensimeter wird auf das Stativ so befestigt, daß das Manometerrohr auf eine in $\frac{1}{2}$ Millimeter geteilte Glasskala zu liegen kommt. Das Grundbrett des Tensimeters ist durch zwei Stellschrauben K mittelst einer Wasserwaage genau in die Horizontale einzustellen. Das Tensimeter kommt in einen Thermostaten. Als Vergleichslösung dient destilliertes Wasser. Um den Apparat zu eichen und gleichzeitig die Genauigkeit desselben zu prüfen, kann man die anderweitig bekannte Konzentration der Lösung einer Substanz von bekanntem Molekulargewicht ermitteln. Die anzuwendende Formel hierfür ist:

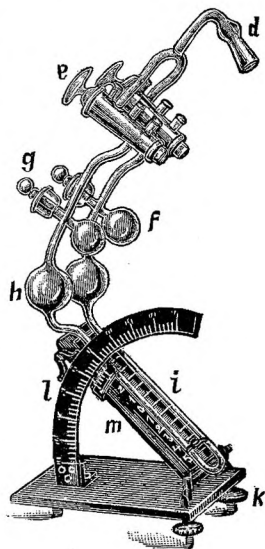


Fig. 17.

$$X = \frac{M \times \Delta p \times N}{p \cdot s}$$

wo $N = \frac{\text{Gramm Lösungsmittel}}{\text{Molekulargewicht des Lösungsmittels}}$ für Wasser $\frac{100}{18} = 5.55$,

Δp die Tensionsdifferenz, p die Tension des Wasserdampfes bei der Versuchstemperatur, M das Molekulargewicht der gelösten Substanz und s das spezifische Gewicht des Quecksilbers ist. Die Längen sind in cm anzugeben. Der Güte von Herrn Dr. Friedenthal verdankt der Verfasser folgendes Beispiel: Angewendet wurde eine 5% NaCl Lösung, deren Prozentgehalt tensimetrisch bestimmt werden sollte. Die Versuchstemperatur betrug 40.1° , die Tension des Wasserdampfes hierbei ist 55,46 mm Hg. Der Dissoziationsgrad des Kochsalzes in dieser Lösung beträgt 0.8; das mittlere Molekular-

gewicht des Kochsalzes in dieser Lösung $M=32,2$; das spezifische Gewicht der Manometerflüssigkeit Rüböl $=0,915$, der Neigungswinkel des Tensimeters bei der Ablesung betrug 45° , als Vergleichslösung diente destilliertes Wasser. Die abgelesene Tensionsdifferenz am Manometer betrug $32,0\text{ mm Rüböl}$.

$$X = \frac{32,2 \times 2,08 \times 5,55}{5,546 \times 13,6} = 4,93\% \text{ (statt } 5,00\% \text{)}.$$

Die benötigte Menge Lösung betrug $0,5\text{--}0,2\text{ cm}^3$.

Das Friedenthalsche Tensimeter hat sich besonders nützlich erwiesen zur Untersuchung der Veränderungen in der molaren, beziehentlich osmotischen Konzentration, welche in einer Lösung spaltungsfähiger Substanzen durch Fermente im Verlaufe von deren Einwirkung auf die letzteren entstehen.

Differentialtensimeter von Moore und Roaf zur Bestimmung der Dampfspannung von Chloroform usw.

Das Prinzip des Differentialtensimeters von Moore und Roaf ist im allgemeinen aus der Figur 18 ersichtlich. Die beiden Röhren sind in cm geteilt und im oberen Teile, dem Messbereich, in $\frac{1}{10}\text{ cm}^3$. Der ganze Apparat ist an einem festen Stativ befestigt

und jeder Teil für sich verschiebbar, um das Quecksilberniveau zu justieren. Die Röhren sind beim Versuch mit Warmwasserröhren umgeben. Die oberen eingeschliffenen Glasstopfen sind zur Dichtung mit Ringen, die mit Quecksilber gefüllt werden, umgeben. In das Innere der Röhre kann eine Vorrichtung zum Rühren und Mischen der Flüssigkeit eingeführt werden (in der Figur durch die auf dem Quecksilber ruhenden Knöpfen dargestellt). Durch das Rühren wird auch die Herstellung des Gleichgewichts zwischen Flüssigkeit und Dampfraum beschleunigt. Das niedrigere Seitenrohr neben jedem größeren Rohr dient zur Beseitigung der eventuellen kleinen Luftbläschen, welche langsam durch die Gummiverbindungen hindurchdringen, wenn das Quecksilberreservoir nach Herstellung des Vakuums gesenkt wird.

Durch Heben des Quecksilberreser-

voirs bei geöffnetem Kautschukverschluß und Auslaufen von etwas Quecksilber kann die eingedrungene Luft entfernt werden. Das Quecksilberreservoir ist an einem Halter befestigt, der gröbere Verstellung und feinere vermittelt einer Schraube gestattet. Beim Gebrauch des Apparates werden die beiden Rohre zunächst in gleicher Höhe eingestellt, das Quecksilberreservoir wird mit Quecksilber gefüllt und der ganze Apparat bei geöffnetem Stopfen mit Quecksilber angefüllt. Hierauf werden die Stopfen geschlossen und mit Quecksilber gedichtet und das Quecksilberreservoir gesenkt gestellt, bis ein Vacuum hergestellt ist. Das Reservoir wird dann bis zur Höhe gehoben, um die letzten Luftbläschen zu entfernen.

Moore und Roaf haben das Tensimeter angewandt zur Ermittlung der Dampfspannung von Chloroform in Wasser, Salzlösungen und Serum. Das Tensimeter würde sich auch zu anderen Dampfdruckbestimmungen eignen; es sei aber das von Moore und Roaf benutzte Verfahren hier beschrieben. Im gebrauchsfertigen Apparat werden bei

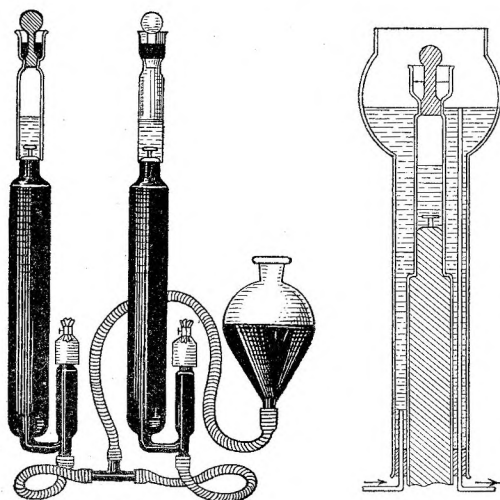


Fig. 18a.

b.

geöffnetem Stopfen die Quecksilberniveaus so justiert, daß auf beiden Seiten ein gleiches Niveau über dem Quecksilber ist. Hierauf wird ein bestimmtes Volumen (z. B. 5 cm³) des Lösungsmittels auf der einen Seite und dasselbe Volumen einer Chloroformlösung im gleichen Lösungsmittel auf der anderen Seite eingeführt. Die eingeführte Lösung, z. B. Blut oder Serum muß gasfrei sein (vorher entgasen). Sowie die Lösung eingeführt worden ist, werden die Stopfen geschlossen, wobei Sorge zu tragen ist, daß keine Luft mit eingeschlossen wird. Um dies zu verhindern, werden 2—3 cm³ mehr als erforderlich über das Quecksilber eingebracht, derart, daß die Flüssigkeit im oberen Hals der Röhre übersteht. Durch Lüften des Stopfens und Regulieren mit dem Quecksilberniveau wird das gewünschte Volumen eingebracht. Nachdem sich auf beiden Seiten das gleiche Volumen Flüssigkeit ohne Luft befindet, wird das Quecksilber gesenkt, bis ein Dampfraum entsteht. Auf derjenigen Seite, auf welcher sich die Chloroformlösung befindet, wird das Quecksilber tiefer stehen. Die Differenz wird direkt den Dampfdruck der Chloroformlösung für die betreffende Konzentration und Temperatur geben. Der Dampfdruck des Wassers wird allerdings einen kleinen Fehler bedingen, insofern auf der Seite der Chloroformlösung eine konzentriertere Lösung sich befindet, wodurch der Dampfdruck des Wassers vermindert wird. Doch kann der Fehler im Vergleich zur Größe des Dampfdruckes des Chloroforms vernachlässigt werden. Es sind einige Vorsichtsmaßregeln zu beachten. 1. Vor der Ablesung muß der Dampfraum über den wäßrigen Lösungen auf gleiches Volumen eingestellt werden, damit keine Ungleichheit des Druckes der auf beiden Seiten ausgepumpten Gase eintritt. 2. Es muß kräftig gerührt werden, bis man dauernd konstante Ablesungen erhält. 3. Die Temperatur muß auf beiden Seiten gleich sein. 4. Eine Korrektur ist anzubringen an der Konzentration der eingeführten Lösung für die Menge des an den Dampfraum abgegebenen Chloroforms. Die im Dampfraum vorhandene Chloroformmenge wird gefunden aus dem Produkt aus beobachtetem Dampfdruck und Volum des Dampfraums. Zieht man diesen Wert von der anderweitig bekannten Konzentration der eingeführten Lösung ab, so erhält man die Konzentration der Chloroformlösung, welche dem beobachteten Dampfdruck entspricht. Das Verhältnis des Dampfdruckes der Lösung zur Konzentration im Dampfraum gibt den Teilungskoeffizienten.

Moore und Roaf bringen zwei Methoden zur Anwendung. Die eine Methode besteht in der Herstellung von Dampfäumen variablen Volumens und einer stets gleich konzentrierten Lösung, die andere in der Benutzung eines stets konstanten Volums und verschieden konzentrierter Lösungen. Die letztere Methode gibt die genaueren Resultate.

Abteilung 4. Bestimmung der Leitfähigkeit der Elektrolyte.

Theorie.

In wäßrigen Lösungen, somit in den Flüssigkeiten des tierischen Organismus, sind die gelösten Elektrolyten teilweise als Ionen vorhanden. Die früher besprochene osmotische Konzentration ist die Konzentration an nicht dissoziierten Molekülen + Ionen, der osmotische Druck ist eine von der Summe beider abhängige Größe. In Lösungen von Elektrolyten geben daher die Methoden, welche direkt oder indirekt den osmotischen Druck bestimmen, keinen Aufschluß über die molekulare Konzentration. Der Anteil, welchen die Ionen an den besprochenen Größen, sowie an einer Reihe von Erscheinungen, die von ihnen abhängen, haben, wird ermittelt mit Hilfe der Leitfähigkeitsbestimmung. Die Leitfähigkeit einer Lösung hängt ab, bei bestimmter Temperatur, von ihrem Gehalt an freien Ionen und von der Reibung der Ionen an ihren Nachbarn und am Lösungsmittel oder von der Wanderungsgeschwindigkeit. Die Leitfähigkeit wird gefunden durch Bestimmung der mit ihr reziproken Größe, dem elektrischen Widerstand, ausgedrückt in Ohm.

Als spezifische Leitfähigkeit (K) bezeichnet man die in reziproken Ohm ausgedrückte Leitfähigkeit, die ein Flüssigkeitszylinder von 1 qcm Grundfläche und 1 cm Höhe hat und als Einheit das Leitvermögen einer Flüssigkeit, die in der Form eines Zylinders von 1 qcm Grundfläche und 1 cm Höhe den Widerstand 1 Ohm besitzt. Es ist dann $w = \frac{1}{K} \frac{1}{f}$ Ohm; $K = \frac{1}{f} \frac{1}{w}$, wo l die Länge in cm, f der Querschnitt in cm² des Gefäßes ist, in dem die Lösung sich befindet. Unter äquivalenter Leitfähigkeit (A) versteht man die Leitfähigkeit einer Lösung, die 1 Grammäquivalent in 1 cm³ Lösung enthält. $A = \frac{K}{\eta}$; sei $\varphi = \frac{1}{\eta}$ die Verdünnung im cm³/gr Äquivalenten, so ist $A = K \varphi$. Die Leitfähigkeit von Lösungen wird in Gefäßen verschiedenen Kalibers bestimmt. Es ist meist unbequem den zwischen den Elektroden befindlichen Raum auszumessen. Anstatt dessen führt man die Widerstandskapazität ein, d. h. den Widerstand, welchen das Gefäß hat, wenn es mit einer Lösung von der spezifischen Leitfähigkeit 1 gefüllt wird. Dann wird

$$K = \frac{C}{w} \text{ oder } A = \frac{\varphi C}{w}.$$

Die Ermittlung der Leitfähigkeit gibt einen Wert, der im allgemeinen von zwei Faktoren abhängt. In sehr verdünnten Lösungen ist die Dissoziation eine vollständige und die äquivalente Leitfähigkeit A_∞ ist nur abhängig von der Wanderungsgeschwindigkeit der Ionen, in nicht verdünnten Lösungen ist die äquivalente Leitfähigkeit außerdem abhängig von dem Bruchteil α eines im Volum η aufgelösten Grammäquivalentes, der in Ionen gespalten ist. Es ist nach Kohlrausch

$$A_\infty = l_K + l_A; A_i = \alpha (l_K + l_A) \text{ also } \alpha = \frac{A_i}{\text{Dissoziationsgrad } A_\infty}$$

wo l_K und l_A die Wanderungsgeschwindigkeiten der Kationen und Anionen sind. Es kann also der Dissoziationsfaktor α ermittelt werden durch die Bestimmung der Leitfähigkeit zweier Lösungen verschiedener Konzentration. Voraussetzung hierfür ist, daß durch Verdünnung der konzentrierten Lösung sich ein Grenzwert erreichen läßt, in dem die auf ein Grammäquivalent berechnete Leitfähigkeit nicht mehr zunimmt. In vielen Fällen, wo sich dieser Grenzwert, die molekulare Leitfähigkeit, nicht experimentell finden läßt, kann man dieselbe berechnen. (Näheres hierüber siehe Ostwald-Luther, Phys. chem. Messungen p. 434.)

Die dargelegten theoretischen Grundlagen der Leitfähigkeitsbestimmungen gelten zunächst nur streng für Lösungen eines einzigen Elektrolyten. Sehr viel verwickelter werden die Erscheinungen in Lösungen von mehreren Elektrolyten nebst Nichtelektrolyten, insbesondere dann, wenn deren Menge und Natur nicht anderweitig bekannt sind. Dieser Fall liegt bei den rein physiologischen Untersuchungen vor. Bei den Anwendungen der Leitfähigkeitsbestimmung in der Physiologie wird hierauf eingegangen werden.

Anmerkung: Früher wurde das elektrische Leitvermögen auf Quecksilber von 0° als Einheit bezogen. Diese Einheit ist 10630 mal größer und wird als K bezeichnet. Es ist demnach $K = 10630 \text{ K}$.

Das Leitvermögen ist abhängig von der Temperatur, indem von dieser sowohl der Grad der Dissoziation sowie die Wanderungsgeschwindigkeit beeinflusst wird; im allgemeinen wächst das Leitvermögen auf 1^0 um mehrere Prozente. Ist K_{18} das Leitvermögen bei 18^0 , K_1 und K_2 das Leitvermögen bei den Temperaturen t_1 und t_2 , so ist der Temperaturkoeffizient

$$c = \frac{1}{K_{18}} \frac{K_2 - K_1}{t_2 - t_1}.$$

Praktische Ausführung der Bestimmung.

Das Leitvermögen wird ermittelt durch Bestimmung des Widerstandes der betreffenden Lösung. Der Widerstand der Lösung wird gefunden mit Hilfe der Wheatstoneschen Brückenordnung. Die Brückenordnung wird gebildet aus dem zu messenden Widerstand w , einem Rheostatem R mit bekannten Widerständen, einem Meßdraht und einem Zweige, der einen variablen Punkt des Meßdrahtes mit dem Knotenpunkt der beiden ersten Zweige verbindet. In diesem Verbindungszweige fließt kein Strom, wenn sich $\frac{w}{R} = \frac{a}{b}$ verhält, wo a und b die Längen der durch Kontaktverschiebung zu suchenden Teilstrecken des Meßdrahtes sind. Daraus ergibt sich der gesuchte Widerstand $u = R \frac{a}{b}$. Die Versuchsanordnung ist aus der beifolgenden Figur 19 ersichtlich.

Da es sich um polarisierbare Leiter zweiter Klasse handelt, muß zur Vermeidung der Polarisation der Brückenordnung ein Wechselstrom zugeführt werden. Die

Benutzung eines Wechselstromes hat zur Folge, daß man zum Erkennen, ob im Brückendraht Strom vorhanden ist oder nicht, sich eines Telefons bedienen muß. Wie aus der Figur ersichtlich, legt man, einem Vorschlag von Kohlrausch folgend, den Wechselstrom liefernden Apparat in den mit dem Gleitkontakt verbundenen

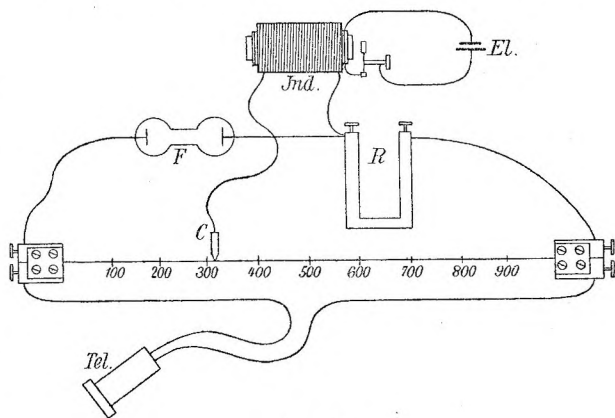


Fig. 19.

Zweig, das Telefon aber an die unverrückbaren Zuleitungsdrähte zum Meßdraht. An dem Prinzip wird durch diese Vertauschung der sonst üblichen Anordnung nichts geändert. Hingegen werden die Unreinheit und Ungenauigkeit des Telephontones, die durch ungenügende Anlagerung des gleitenden Kontaktes resultieren, vermieden. Ganz allgemein wird die Messung so ausgeführt, daß ein passender Vergleichswiderstand eingeschaltet, der Wechselstrom in Gang gesetzt und durch Verschiebung des Gleitkontaktes am Meßdrahte

diejenige Einstellung aufgesucht wird, welche den Ton im Telephone verschwinden oder zu einem Minimum macht.

Spezielles Versuchsverfahren: 1. Der Meßdraht. Als Meßdraht bedient man sich entweder einer Kohlrauschschen Brückenwalze oder, was einfacher ist, des Ostwaldschen gestreckten Meßdrahtes, wie er von F. Köhler geliefert wird. Der Meßdraht ist in 1000 Skalenteile abgeteilt. Der Draht, der entweder aus iridiumhaltigen Platin oder aus Konstantan ist, soll über der Teilung liegen. Alle Meßdrähte bedürfen der Kalibrierung. Unter den mannigfachen Methoden hierzu empfiehlt sich durch ihre Einfachheit und Genauigkeit diejenige von Strouhal und Barus. Die Kalibriervorrichtung (Katalog Fr. Köhler, Leipzig p. 97) besteht aus 10 nahezu gleichen Widerständen aus Manganin, welche in Quecksilbernäpfe tauchen. Die Summe dieser Widerstände soll annähernd von derselben Größenordnung wie der Widerstand des Meßdrahtes sein. Die einzelnen Manganindrähte kommen in Glasröhren; an ihre Enden sind kurze dicke Kupferbügel angelötet, welche

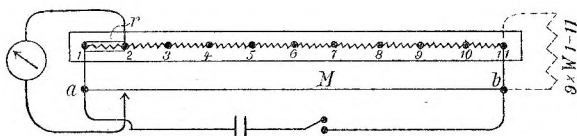


Fig. 20.

gut amalgamiert werden. Die zehn Widerstände kommen in eine Holzlatte; in diese sind je in der Distanz der umgebogenen Kupferbügel elf Näpfe eingbohrt, welche mit Quecksilber gefüllt werden. Es ist zweckmäßig, daß die Länge der Latte und dementsprechend der zehn Widerstände dieselbe sei, wie diejenige des Meßdrahtes. Einer der zehn Widerstände sei durch ein besonderes Zeichen gekennzeichnet. Die Schaltung und das Verfahren ist nach Ostwald-Luther folgendes: „Die Leitungsdrähte des Elementes werden mit den Enden a und b (Fig. 20) verbunden; man bringt die Leitungen des Galvanometers in den Quecksilbernapf 2 und an den Schlitten des Meßdrahtes und sucht mittelst desselben den Ort auf, wo der Ausschlag verschwindet. Nun wird der erste mit irgend einem Abzeichen versehene Widerstand r mit seinem Nachbar zur rechten vertauscht; man bestimmt die Stellung des Schlittens, indem die Galvanometerleitung einmal mit 2, sodann mit 3 verbunden ist, und notiert beide Ablesungen. Deren Unterschied entspricht einem Stück des Meßdrahtes, dessen Widerstand denselben Bruchteil des gesamten Meßdrahtwiderstandes ausmacht, wie der markierte Draht von der Summe aller zehn Widerstände. Der markierte Widerstand r wird nun zwischen 3 und 4 gebracht und wie früher verfahren, bis man schließlich r zwischen 10 und 11 hat, wo statt der beiden Ablesungen wieder nur eine, mit der Galvanometerleitung in 10, nötig ist. Durch diese Messungen hat man auf dem Meßdraht zehn gleichwertige Stücke bestimmt, von denen jedes nahezu ein Zehntel des Ganzen ist. Man addiert alle zehn Werte, teilt die Differenz gegen 1000 mm in zehn Teile und korrigiert jeden Einzelwert um diesen Betrag, so daß nunmehr die Summe genau 1000 mm ausmacht. Addiert man nun noch folgeweise die einzelnen korrigierten Strecken

in der Weise 1, 1+2, 1+2+3 . . . , so hat man in den erhaltenen Zahlen die Punkte, welche den aufeinander folgenden Zehnteln des Meßdrahtes entsprechen, und die Unterschiede dieser Werte gegen 100, 200, 300 mm . . . sind die an den entsprechenden Stellen anzubringenden Korrekturen“.

Beispiel (ein dem physiolog. Institut in Bern überlieferter Meßdraht).

Stellung des Kontaktes, die dem linken rechten Ende des wandernden Drahtstückes entspricht.		Unter- schied	Korrek- tion	Draht- längen der einzelnen Zehntel des Meßdrahtwiderstandes.	End- punkte	Korrektion an den End- punkten der Zehntel.	
Klemm- schraube	103.0	103	— 2.89	100.11	100.11	— 0.1	
	107.5	210.3	103.2	— 2.89	100.31	200.42	— 0.4
	205.0	308.0	103	— 2.89	100.11	300.53	— 0.5
	304.9	408.0	103.1	— 2.89	100.21	400.74	— 0.7
	407.8	510.7	102.9	— 2.89	100.01	500.75	— 0.8
	504.0	607.0	103.0	— 2.89	100.11	600.86	— 0.9
	606.0	708.9	102.9	— 2.89	100.01	700.87	— 0.9
	702.5	805.3	102.8	— 2.89	99.91	800.78	— 0.8
	799.0	902.0	103.0	— 2.89	100.11	900.89	— 0.9
	898.0	Klemmdraht.	102.0	— 2.89	99.11	1000.00	
		1028.9					

Widerstände: Genaue Widerstandsätze werden jetzt von mehreren Firmen geliefert, Beglaubigung von der Reichsanstalt eventuell mit. Die Wicklung sei entweder bifilar oder unifilar nach Chaperon. Für die in der Physiologie vorkommenden Messungen des Leitvermögens reicht man keinesfalls mit einem kleinen Widerstandsatz von 1, 10, 100 und 1000 Ohm. Man bedarf eines Widerstandssatzes, welcher mindestens gestattet, die Hunderte und Zehner Ohm zu variieren.

Leitfähigkeitsgefäße: Für manche Zwecke reichen die in der Physik gebräuchlichen Leitfähigkeitsgefäße von Kohlrausch oder Arrhenius aus. Für die speziellen Bedürfnisse der Biologie sind die Gefäße von Henry, Hamburger, Asher, Borgers und Galeotti eingerichtet.

Das Gefäß von Henry (Fig. 21a) hat vertikal stehende Elektroden, um die Leitfähigkeit von solchen Lösungen bestimmen zu können, welche nach oben oder unten gehende kleine Körperchen enthalten (Blut, Milch usw.). Die Elektroden sind unverrückbar eingeschmolzen. Das Gefäß ist mit Stöpsel verschlossen, so daß man sowohl mit flüchtigen oder hygroskopischen Substanzen arbeiten, wie auch das Gefäß sterilisieren kann. In dem Gefäß von Asher (Fig. 21b) sind die Elektroden auch vertikal gestellt, aber im Deckel aus Hartgummi unverrückbar befestigt, anstatt in der Wandung eingeschmolzen. Es erfordert nur 1,7 cm³ Flüssigkeit, um bis über die Elektroden gefüllt zu sein. Im Gegensatz zu Henrys Gefäß läßt es sich leicht reinigen. Hamburgers Gefäß ist in Fig. 21c dargestellt. Das Leitfähigkeitsgefäß von Borgers (Fig. 21d) bedarf 3—4 Tropfen Versuchsflüssigkeit.

Zur Bestimmung der Leitfähigkeit, beziehentlich des Widerstandes von Gewebstücken, hat Galeotti einen Apparat konstruiert, dessen Bau leicht aus der Figur 22 zu ersehen ist. Die Gewebestücke kommen zwischen die beiden Elektroden a und b (letztere ist durch das Ebonitstück D von dem Metallrahmen isoliert). Zur Kapazitätsbestimmung werden die beiden Elektroden von einem passenden Glasring umgeben, so

daß die Form eines gewöhnlichen Gefäßes zur Bestimmung der Leitfähigkeit entsteht, und mit Hilfe von KCl Lösung wird die Kapazität ermittelt. Bei der Bestimmung der Leitfähigkeit von Gewebsstücken selbst ist peinlich darauf zu achten, daß die obere Elektrode unverrückbar fest befestigt sei. Hierzu dienen die Schrauben h und g.

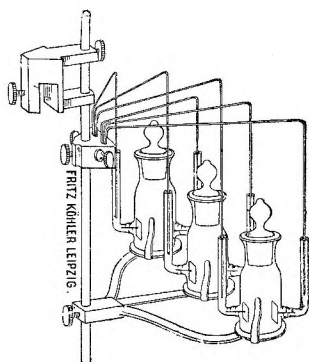


Fig. 21a.

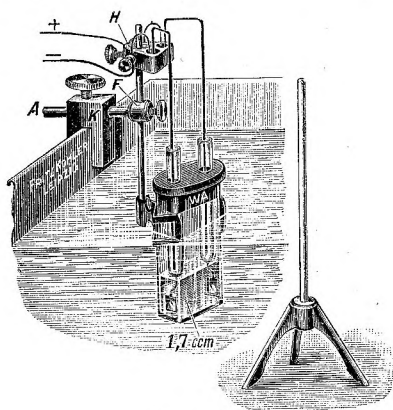


Fig. 21b.

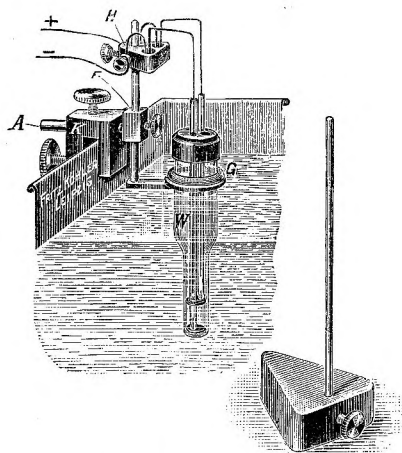


Fig. 21c.

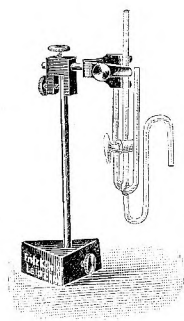


Fig. 21d.

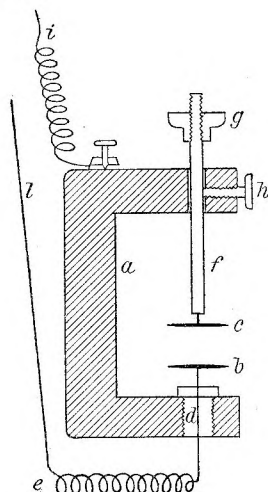


Fig. 22.

Zum Gebrauche müssen die Elektroden platinirt werden. Die Platinelektroden werden mit Salpetersäure und Alkohol oder Natronlauge und Wasser gereinigt. Als Platinierungsflüssigkeit dient eine 3% Lösung von Platinchlorid mit Zusatz von $\frac{1}{40}$ % Bleiazetat. Man setzt, wo das möglich ist, die beiden Elektroden in ein mit der Lösung gefülltes Bechergläschen und leitet den Strom von 2 Akkumulatoren oder drei bis vier Daniell hindurch, indem man die Stromstärke so reguliert, daß eine mäßige Gasentwicklung eintritt. Der Strom wird 5 Minuten in der einen und 5 Minuten in der anderen Richtung durchgeleitet. Hierauf wässert man die schön samtschwarz platinirten Elektroden längere Zeit in warmem Wasser. Bei Nichtgebrauch

kann man die Elektroden in reinem Wasser aufbewahren. Um die Elektroden zu trocknen, kann man sie in reinen absoluten Alkohol eintauchen.

Induktorium und Telephon: Von den mannigfachen Erregern für Wechselstrom wird man bei allen physiologischen Versuchen stets mit dem kleinen Induktorium nach Ostwald für Mückenton auskommen (Fr. Köhler, Leipzig). Man speist das Induktorium mit einem einzigen Elemente, reguliert die U-förmige Unterbrechungsfeder mit der Stellschraube, bis man einen feinen, surrenden „Mückenton“ hört. Die neueren Ostwaldschen Induktorien werden mit einem Vorschaltwiderstand nach Art der Kohlrauschschen Brückenwalze geliefert, welcher die Einstellung des Mückentons erleichtert. Das Induktorium wird auf Filz oder Gummischlauch gestellt und kann mit einem Kasten bedeckt werden, um den Ton fast unhörbar zu machen. In das eine Ohr kommt ein Antiphon oder ein mit Gummi bezogenes Glasstäbchen. Der Strom zur primären Rolle soll nur während der Messung durchgehen, sonst aber durch einen Schlüssel geöffnet sein. Ostwald schaltet zum Schutze des Kontaktes vor dem Öffnungsfunken einen elektrolytischen Kondensator vor, welcher aus zwei Aluminiumblechen, die in Sulfatlösung oder Seifenwasser tauchen, besteht. Jedes Telephon, welches keinen zu großen Widerstand hat (10—30 Ohm) und symmetrisch ist, kann verwandt werden. Das Telephon wird bei der Messung fest an das Ohr gedrückt.

Drahtverbindungen: Die Leitungsdrähte, welche die einzelnen Teile der Anordnung verbinden, sollen einen möglichst kleinen Widerstand haben, der bei der Berechnung dann vernachlässigt werden darf.

Spezielle Ausführung der Messung: Alle Glasgefäße, mit welchen die zu untersuchende Flüssigkeit in Berührung kommt, sind nach der oben beschriebenen Methode von Abegg (siehe S. 113) vor dem Gebrauch auszudämpfen, ebenso das Widerstandsgefäß. Zuerst muß die Widerstandskapazität des Leitfähigkeitsgefäßes bestimmt werden. Nach der Gleichung $C = wk$ läßt sich die Widerstandskapazität aus dem Widerstand W finden, den die Füllung mit einer Flüssigkeit von bekannten Leitvermögen K gibt. Das Widerstandsgefäß wird mit der betreffenden Flüssigkeit (z. B. 0.1 normale KCl Lösung, $K_{18} = 0.01119$) bis zur Marke gefüllt und in den Thermostaten gebracht, der auf 18° einreguliert wird. Bei allen Bestimmungen ist ein auf eine Genauigkeit von 0.2° regulierbarer Thermostat nötig. Ein Widerstand des Vergleichsrheostaten wird eingeschaltet und zwar ein solcher, der, falls das nicht schon vorher der Fall sein sollte, das Minimum etwa in der Mitte des Meßdrahtes auftreten läßt. In der Mitte des Meßdrahtes ist die Genauigkeit am größten. Es werden noch einige Kontrollbestimmungen mit benachbarten Rheostatwiderständen ausgeführt. Nach guter Reinigung und Trocknung des Leitfähigkeitsgefäßes wird es wiederum genau bis zur Marke mit der zu untersuchenden Flüssigkeit gefüllt und die Bestimmung, wie oben beschrieben, wiederholt. Der gefundene Widerstand $W = R \frac{a}{b}$. Das jewei-

lige Verhältnis $\frac{a}{b}$ ist auch den hier folgenden Obachschen Tafeln zur Wheatstone-Kirchhoffschen Brücke ablesbar.

Das, worauf man einzustellen hat, wird in den seltensten Fällen ein absolutes Schweigen des Tones im Telephon sein, sondern ist meist ein Mini-

mun. Bei korrektem Arbeiten wird man im Intervall von 1—2 Skalenteilen des in 1000 geteilten Meßdrahtes eine Stelle finden, neben welcher zu beiden Seiten der Ton deutlich ansteigt.

Fehlerquellen: Das Tonminimum kann verwaschen sein. Dies rührt nach Kohlrausch entweder von Polarisierung oder Selbstinduktion oder Kapazität her. Bei den meisten der in der Physiologie vorkommenden Messungen spielt, vorausgesetzt daß man mit von guten Firmen gelieferten Apparaten arbeitet, fast nur die Polarisierung eine Rolle. Um die Polarisierung möglichst zu verringern, müssen die Elektroden genügend groß und platinisiert sein und muß das Widerstandsgefäß eine genügend große Kapazität besitzen. Die Widerstandskapazität von zwei Gefäßen, welche sich bewährt haben, nämlich die Formen von Hamburger und Asher, beträgt 1,208 beziehentlich 1,271. Häufiges Platinieren ist nicht zu umgehen. Bei großen Widerständen kann durch Kapazität (Aufnahme von Ladungen) ein schlechtes Tonminimum entstehen. Hiergegen kann man sich dadurch helfen, daß man die in einem Zweige auftretende Kapazität durch Hinzufügen eines abstufbaren Kondensators im anderen Zweige kompensiert. Eine wesentliche Fehlerquelle ist die Erwärmung durch den Induktionsstrom. Man schützt sich vor diesem Fehler, daß man möglichst schwache Ströme benutzt und den Strom nur kurze Zeit schließt. Die kurze Dauer des Stromschlusses hat noch den Vorzug, daß man bei kürzerem Horchen in das Telephon das Minimum besser wahrnimmt als bei längerem Hinhören, wobei das Ohr abstumpft.

Obachsche Tafeln aus Kohlrausch & Holborn, Leitvermögen
der Elektrolyte. (Leipzig, Teubner.)

a	0	100	200	300	400	500	600	700	800	900
0	0,0000	0,1111	0,2500	0,4286	0,6667	1,0000	1,500	2,333	4,000	9,00
1	0,0010	0,1123	0,2516	0,4306	0,6694	1,0040	1,506	2,344	4,025	9,10
2	0,0020	0,1136	0,2531	0,4327	0,6722	1,0080	1,513	2,356	4,051	9,20
3	0,0030	0,1148	0,2547	0,4347	0,6750	1,0121	1,519	2,367	4,076	9,31
4	0,0040	0,1161	0,2563	0,4368	0,6779	1,0161	1,525	2,378	4,102	9,42
5	0,0050	0,1173	0,2579	0,4388	0,6807	1,0202	1,532	2,390	4,128	9,53
6	0,0060	0,1186	0,2594	0,4409	0,6835	1,0243	1,538	2,401	4,155	9,64
7	0,0070	0,1198	0,2610	0,4430	0,6863	1,0284	1,545	2,413	4,181	9,75
8	0,0081	0,1211	0,2626	0,4451	0,6892	1,0325	1,551	2,425	4,208	9,87
9	0,0091	0,1223	0,2642	0,4472	0,6921	1,0367	1,558	2,436	4,236	9,99
10	0,0101	0,1236	0,2658	0,4493	0,6949	1,0408	1,564	2,448	4,263	10,11
11	0,0111	0,1249	0,2674	0,4514	0,6978	1,0450	1,571	2,460	4,291	10,24
12	0,0121	0,1261	0,2690	0,4535	0,7007	1,0492	1,577	2,472	4,319	10,36
13	0,0132	0,1274	0,2706	0,4556	0,7036	1,0534	1,584	2,484	4,348	10,49
14	0,0142	0,1287	0,2723	0,4577	0,7065	1,0576	1,591	2,497	4,376	10,63
15	0,0152	0,1299	0,2739	0,4599	0,7094	1,0619	1,597	2,509	4,405	10,76
16	0,0163	0,1312	0,2755	0,4620	0,7123	1,0661	1,604	2,521	4,435	10,90
17	0,0173	0,1325	0,2771	0,4641	0,7153	1,0704	1,611	2,534	4,464	11,05
18	0,0183	0,1337	0,2788	0,4663	0,7182	1,0747	1,618	2,546	4,495	11,20
19	0,0194	0,1351	0,2804	0,4684	0,7212	1,0790	1,625	2,559	4,525	11,35

a	0	100	200	300	400	500	600	700	800	900
20	0,0204	0,1364	0,2820	0,4706	0,7241	1,0833	1,632	2,571	4,556	11,50
21	0,0215	0,1377	0,2837	0,4728	0,7271	1,0877	1,639	2,584	4,587	11,66
22	0,0225	0,1390	0,2853	0,4749	0,7301	1,0921	1,646	2,597	4,618	11,82
23	0,0235	0,1403	0,2870	0,4771	0,7331	1,0964	1,653	2,610	4,650	11,99
24	0,0246	0,1416	0,2887	0,4793	0,7361	1,1008	1,660	2,623	4,682	12,16
25	0,0256	0,1429	0,2903	0,4815	0,7391	1,1053	1,667	2,636	4,714	12,33
26	0,0267	0,1442	0,2920	0,4837	0,7422	1,1097	1,674	2,650	4,747	12,51
27	0,0277	0,1455	0,2937	0,4859	0,7452	1,1142	1,681	2,663	4,780	12,70
28	0,0288	0,1468	0,2953	0,4871	0,7483	1,1186	1,688	2,676	4,814	12,89
29	0,0299	0,1481	0,2970	0,4903	0,7513	1,1231	1,695	2,690	4,848	13,08
30	0,0309	0,1494	0,2907	0,4925	0,7544	1,1277	1,703	2,704	4,882	13,29
31	0,0320	0,1507	0,3004	0,4948	0,7575	1,1322	1,710	2,717	4,917	13,49
32	0,0331	0,1521	0,3021	0,4970	0,7606	1,1368	1,717	2,731	4,952	13,71
33	0,0341	0,1534	0,3038	0,4993	0,7637	1,1413	1,725	2,745	4,988	13,93
34	0,0352	0,1547	0,3055	0,5015	0,7668	1,1459	1,732	2,759	5,024	14,15
35	0,0363	0,1561	0,3072	0,5038	0,7699	1,1505	1,740	2,774	5,061	14,38
36	0,0378	0,1574	0,3089	0,5060	0,7731	1,1552	1,747	2,788	5,098	14,63
37	0,0384	0,1587	0,3106	0,5083	0,7762	1,1598	1,755	2,802	5,135	14,87
38	0,0395	0,1601	0,3123	0,5106	0,7794	1,1645	1,762	2,817	5,173	15,13
39	0,0406	0,1614	0,3141	0,5129	0,7825	1,1692	1,770	2,831	5,211	15,39
40	0,0417	0,1628	0,3158	0,5152	0,7857	1,1739	1,778	2,846	5,250	15,67
41	0,0428	0,1641	0,3175	0,5175	0,7889	1,1786	1,786	2,861	5,289	15,95
42	0,0438	0,1655	0,3193	0,5198	0,7921	1,1834	1,793	2,876	5,329	16,24
43	0,0449	0,1669	0,3210	0,5221	0,7953	1,1882	1,801	2,891	5,369	16,54
44	0,0460	0,1682	0,3228	0,5244	0,7986	1,1930	1,809	2,906	5,410	16,86
45	0,0471	0,1696	0,3245	0,5267	0,8018	1,1978	1,817	2,922	5,452	17,18
46	0,0482	0,1710	0,3263	0,5291	0,8051	1,2026	1,825	2,937	5,494	17,52
47	0,0493	0,1723	0,3280	0,5314	0,8083	1,2075	1,833	2,953	5,536	17,87
48	0,0504	0,1737	0,3298	0,5337	0,8116	1,2124	1,841	2,968	5,579	18,23
49	0,0515	0,1751	0,3316	0,5361	0,8149	1,2173	1,849	2,984	5,623	18,61
50	0,0526	0,1765	0,3333	0,5385	0,8182	1,2222	1,857	3,000	5,667	19,00
51	0,0537	0,1779	0,3351	0,5408	0,8215	1,2272	1,865	3,016	5,711	19,41
52	0,0549	0,1792	0,3369	0,5432	0,8248	1,2321	1,874	3,022	5,757	19,83
53	0,0560	0,1806	0,3387	0,5456	0,8282	1,2371	1,882	3,049	5,803	20,28
54	0,0571	0,1820	0,3405	0,5480	0,8315	1,2422	1,890	3,065	5,849	20,74
55	0,0582	0,1834	0,3423	0,5504	0,8349	1,2472	1,899	3,082	5,897	21,22
56	0,0593	0,1848	0,3441	0,5528	0,8382	1,2523	1,907	3,098	5,944	21,73
57	0,0604	0,1862	0,3459	0,5552	0,8416	1,2573	1,915	3,115	5,993	22,26
58	0,0616	0,1876	0,3477	0,5576	0,8450	1,2624	1,924	3,132	6,042	22,81
59	0,0627	0,1891	0,3495	0,5601	0,8484	1,2676	1,933	3,149	6,092	23,39
60	0,0638	0,1905	0,3514	0,5625	0,8519	1,2727	1,941	3,167	6,143	24,00
61	0,0650	0,1919	0,3532	0,5649	0,8553	1,2779	1,950	3,184	6,194	24,64
62	0,0661	0,1933	0,3550	0,5674	0,8587	1,2831	1,959	3,202	6,246	25,32
63	0,0672	0,1947	0,3569	0,5699	0,8622	1,2883	1,967	3,219	6,299	26,03
64	0,0684	0,1962	0,3587	0,5723	0,8657	1,2936	1,976	3,237	6,353	26,78
65	0,0695	0,1976	0,3605	0,5748	0,8692	1,2989	1,985	3,255	6,407	27,57
66	0,0707	0,1990	0,3624	0,5773	0,8727	1,3041	1,994	3,274	6,463	28,41
67	0,0718	0,2005	0,3643	0,5798	0,8762	1,3095	2,003	3,292	6,519	29,30
68	0,0730	0,2019	0,3661	0,5823	0,8797	1,3148	2,012	3,310	6,576	30,25
69	0,0741	0,2034	0,3680	0,5848	0,8832	1,3202	2,021	3,329	6,634	31,26

a	0	100	200	300	400	500	600	700	800	900
70	0,0753	0,2048	0,3699	0,5873	0,8866	1,3256	2,030	3,348	6,692	32,33
71	0,0764	0,2063	0,3717	0,5898	0,8904	1,3310	2,040	3,367	6,752	33,48
72	0,0776	0,2077	0,3736	0,5924	0,8939	1,3364	2,049	3,386	6,813	34,71
73	0,0787	0,2092	0,3755	0,5949	0,8975	1,3419	2,058	3,405	6,874	36,04
74	0,0799	0,2107	0,3774	0,5974	0,9011	1,3474	2,067	3,425	6,937	37,46
75	0,0811	0,2121	0,3793	0,6000	0,9048	1,3529	2,077	3,444	7,000	39,00
76	0,0823	0,2136	0,3812	0,6026	0,9084	1,3585	2,086	3,464	7,065	40,67
77	0,0834	0,2151	0,3831	0,6051	0,9120	1,3641	2,096	3,484	7,130	42,48
78	0,0846	0,2165	0,3850	0,6077	0,9157	1,3697	2,106	3,505	7,197	44,45
79	0,0858	0,2180	0,3870	0,6103	0,9194	1,3753	2,115	3,525	7,264	46,62
80	0,0870	0,2195	0,3889	0,6129	0,9231	1,3810	2,125	3,545	7,333	49,00
81	0,0881	0,2210	0,3908	0,6155	0,9268	1,3866	2,135	3,566	7,403	51,63
82	0,0893	0,2225	0,3928	0,6181	0,9305	1,3923	2,145	3,587	7,475	54,56
83	0,0905	0,2240	0,3947	0,6207	0,9342	1,3981	2,155	3,608	7,547	57,82
84	0,0917	0,2255	0,3966	0,6234	0,9380	1,4038	2,165	3,630	7,621	61,50
85	0,0929	0,2270	0,3986	0,6260	0,9417	1,4096	2,175	3,651	7,696	65,67
86	0,0941	0,2285	0,4006	0,6287	0,9455	1,4155	2,185	3,673	7,772	70,43
87	0,0953	0,2300	0,4025	0,6313	0,9493	1,4213	2,195	3,695	7,850	75,92
88	0,0965	0,2315	0,4045	0,6340	0,9531	1,4272	2,205	3,717	7,929	82,33
89	0,0977	0,2330	0,4065	0,6367	0,9569	1,4331	2,215	3,739	8,009	89,91
90	0,0989	0,2346	0,4085	0,6398	0,9608	1,4390	2,226	3,762	8,091	99,00
91	0,1001	0,2361	0,4104	0,6420	0,9646	1,4450	2,236	3,785	8,174	110,1
92	0,1013	0,2376	0,4124	0,6447	0,9685	1,4510	2,247	3,808	8,259	124,0
93	0,1025	0,2392	0,4144	0,6474	0,9724	1,4570	2,257	3,831	8,346	141,9
94	0,1038	0,2407	0,4164	0,6502	0,9763	1,4631	2,268	3,854	8,434	165,7
95	0,1050	0,2422	0,4184	0,6529	0,9802	1,4691	2,279	3,878	8,524	199,0
96	0,1062	0,2438	0,4205	0,6556	0,9841	1,4752	2,289	3,902	8,615	249,0
97	0,1074	0,2453	0,4225	0,6584	0,9881	1,4814	2,300	3,926	8,709	332,3
98	0,1086	0,2469	0,4245	0,6611	0,9920	1,4876	2,311	3,950	8,804	499,0
99	0,1099	0,2484	0,4265	0,6639	0,9966	1,4938	2,322	3,975	8,901	999,0
100	0,1111	0,2500	0,4286	0,6667	1,0000	1,5000	2,333	4,000	9,000	0

Spezifisches Leitvermögen von Normalflüssigkeiten zur Bestimmung der Widerstands-Kapazität von Gefäßen.

Nach Kohlrausch, Holborn und Diesselhorst. Wiedem. Ann. 64, S. 440 u. 451, 1898.

	KCl normal	KCl $\frac{1}{10}$ normal	KCl $\frac{1}{50}$ normal	KCl $\frac{1}{100}$ normal
	κ	κ	κ	κ
0°	0,06541	0,00715	0,001521	0,000776
1°	0,06713 172	0,00736 21	0,001566 45	0,000800 24
2°	0,06886 173	0,00757 21	0,001612 46	0,000824 24
3°	0,07061 175	0,00779 22	0,001659 47	0,000848 24
4°	0,07237 176	0,00800 21	0,001705 46	0,000872 24
5°	0,07414 177	0,00822 22	0,001752 47	0,000896 24
6°	0,07593 179	0,00844 22	0,001800 48	0,000921 25
7°	0,07773 180	0,00866 22	0,001848 48	0,000945 24
8°	0,07954 181	0,00888 22	0,001896 48	0,000970 25

	KCl normal	KCl $\frac{1}{10}$ normal	KCl $\frac{1}{50}$ normal	KCl $\frac{1}{100}$ normal
	κ	κ	κ	κ
9°	0,08136 ¹⁸²	0,00911 ²³	0,001945 ⁴⁹	0,000995 ²⁵
10°	0,08319 ¹⁸³	0,00933 ²²	0,001994 ⁴⁹	0,001020 ²⁵
11°	0,08504 ¹⁸⁵	0,00956 ²³	0,002043 ⁴⁹	0,001045 ²⁵
12°	0,08689 ¹⁸⁵	0,00979 ²³	0,002093 ⁵⁰	0,001070 ²⁵
13°	0,08876 ¹⁸⁷	0,01002 ²³	0,002142 ⁴⁹	0,001095 ²⁵
14°	0,09063 ¹⁸⁷	0,01025 ²³	0,002193 ⁵¹	0,001121 ²⁶
15°	0,09252 ¹⁸⁹	0,01048 ²³	0,002243 ⁵⁰	0,001147 ²⁶
16°	0,09441 ¹⁸⁹	0,01072 ²⁴	0,002294 ⁵¹	0,001173 ²⁶
17°	0,09631 ¹⁹⁰	0,01095 ²³	0,002345 ⁵¹	0,001199 ²⁶
18°	0,09822 ¹⁹¹	0,01119 ²⁴	0,002397 ⁵²	0,001225 ²⁶
19°	0,10014 ¹⁹²	0,01143 ²⁴	0,002449 ⁵²	0,001251 ²⁶
20°	0,10207 ¹⁹³	0,01167 ²⁴	0,002501 ⁵²	0,001278 ²⁷
21°	0,10400 ¹⁹³	0,01191 ²⁴	0,002553 ⁵²	0,001305 ²⁷
22°	0,10594 ¹⁹⁴	0,01215 ²⁴	0,002606 ⁵³	0,001332 ²⁷
23°	0,10789 ¹⁹⁵	0,01239 ²⁴	0,002659 ⁵³	0,001359 ²⁷
24°	0,10984 ¹⁹⁵	0,01264 ²⁵	0,002712 ⁵³	0,001386 ²⁷
25°	0,11180 ¹⁹⁶	0,01288 ²⁴	0,002765 ⁵³	0,001413 ²⁷
26°	0,11377 ¹⁹⁷	0,01313 ²⁵	0,002819 ⁵⁴	0,001441 ²⁸
27°	0,11574 ¹⁹⁷	0,01337 ²⁴	0,002873 ⁵⁴	0,001468 ²⁷
		0,01362 ²⁵	0,002927 ⁵⁴	0,001496 ²⁸
		0,01387 ²⁵	0,002981 ⁵⁴	0,001524 ²⁸
		0,01412 ²⁵	0,003036 ⁵⁵	0,001552 ²⁸

Ionengeschwindigkeit: Die Kenntnis der Wanderungsgeschwindigkeit hat zwar für die Physiologie eine große Wichtigkeit, doch ist deren Bestimmung da, wo sie möglich ist, eine rein physikalische Angelegenheit.

Tabelle der elektrolytischen Beweglichkeit der Ionen nach Kohlrausch (Ber. d. Berlin. Akademie 26,586, 1902).

Kationen	Anionen
u für H = 318,0	v für OH = 174
Li = 33,44	F = 46,64
Na = 43,55	Cl = 65,44
Ku = 64,67	Br = 67,63
Rb = 67,6	J = 66,40
Co = 68,2	NO ₃ = 61,78
NH ₄ = 64,4	CN _J = 56,63
Ag = 54,02	ClO ₃ = 55,03
$\frac{1}{2}$ Bo = 57,3	$\frac{1}{2}$ SO ₄ = 70,0
$\frac{1}{2}$ Sr = 54,0	
$\frac{1}{2}$ Ca = 53,0	
$\frac{1}{2}$ Mg = 49,0	

Mit den in obiger Tabelle gegebenen Werten wird man in allen Fällen auskommen, wo man für gewisse später folgende Berechnungen die Kenntnis der Wanderungsgeschwindigkeit haben muß. Sehr eingehende Tabellen finden sich in Hamburger, Osmot. Druck und Ionenlehre, Bd. I.

Physiologische Anwendung der Leitfähigkeitsbestimmungen.

Die eine Art der Anwendung der Bestimmung der Leitfähigkeit in der Physiologie besteht in der Ermittlung des Leitvermögens einer im Experiment gebrauchten Lösung, um aus dem Dissoziationsgrad derselben den Anteil der dissoziierten Ionen am osmotischen Druck der Lösung kennen zu lernen oder um die Löslichkeit schwer löslicher Substanzen zu bestimmen oder um die Beziehung zwischen Dissoziation und irgend einer vom Ionengehalt der Lösung abhängigen physiologischen Wirkung näher zu untersuchen. Bei solchen Untersuchungen spielt die Reinheit des Wassers, in welchem die betreffende Substanz gelöst wird, eine Rolle, die um so größer ist, je geringer die Konzentration der Lösung ist. Das im Laboratorium vorhandene destillierte Wasser kann durch partielles Ausfrieren zu einem ganz brauchbaren gemacht werden. Eine andere Methode besteht darin, daß man das Wasser einmal nach Zusatz von Schwefelsäure und Permanganat und ein zweites Mal nach Zusatz von Barythydrat destilliert. Die Kühler müssen aus Silber oder Zinn sein. Aus den Gefäßen, in welchen das Wasser aufgefangen und aufbewahrt wird, vertreibt man die CO_2 (welche am meisten zur Verunreinigung des Wassers, d. h. zur Erhöhung der Leitfähigkeit beiträgt) durch CO_2 -freie und auch im übrigen reine Luft. Leitfähigkeitswasser, $K = 1 - 2 \times 10^{-6}$ liefert in Ballons von 50 Litern Kahlbaum, Berlin. Alle Glasgefäße, die bei Leitfähigkeitsbestimmungen gebraucht werden, dämpft man in der oben beschriebenen Weise aus.

(Berechnung des wahren osmotischen Druckes einer Elektrolytenlösung. Der von einem Elektrolyten in wäßriger Lösung ausgeübte osmotische Druck ist gleich dem osmotischen Drucke, den er ausüben würde, wenn er aus lauter nicht dissoziierten Molekülen bestände mal einem Faktor i . Dieser Faktor $i = 1 + (K - 1)\alpha$, wo K die Anzahl der Moleküle ist, in welches sich jedes Molekül spalten kann, α der Dissoziationsfaktor. Sind in 22,34 Liter 1 g Molekül undissoziiert enthalten, so beträgt der osmotische Druck 1 Atm.

In einer 0,9 % NaCl Lösung sind $\frac{0,9}{58,5}$ Gramm Moleküle enthalten; in 22,34

Liter würden also $\frac{0,9}{58,5} \times 223,4 = 3,437$ Gramm Moleküle vorhanden sein. Bei

18° würde deren Druck $= 3,437 \left(1 + \frac{18}{273}\right) = 3,663$ Atm. sein. α einer 0,9 %

NaCl Lösung ist $= 0,818$, folglich $i = 1 + 0,818$. Der wahre osmotische Druck einer 0,9 % NaCl Lösung bei 18° ist $3,663 \times 1,818 = 6,67$ Atm.)

Bei weitem die häufigere Anwendung findet die Bestimmung der Leitfähigkeit bei Untersuchungen von Flüssigkeiten aus dem tierischen Organismus. Hierbei treten eine Reihe von wichtigen Unterschieden gegenüber den Messungen in der physikalischen Chemie auf. Meist ist sowohl die genaue qualitative Zusammensetzung, sowie die molekulare Konzentration an nicht dissoziierten Molekülen unbekannt; ferner liegen große Komplikationen in der Ionendissoziation vor, indem bei einem Gemisch von mehreren Elektrolyten eine gegenseitige, teilweise nicht hinreichend bekannte Beeinflussung der Dissoziation vorhanden ist; schließlich sind in den Lösungen neben den Elektrolyten noch gelöste Nichtelektrolyte und eventuell korpuskuläre Ele-

mente vorhanden. Es hängt die im Experimente an tierischen Flüssigkeiten gefundene Leitfähigkeit also von folgenden Faktoren ab: 1. Von der Konzentration an dissoziierten Elektrolyten, welche ihrerseits wiederum von den gleichzeitig vorhandenen anderen Elektrolyten abhängt; 2. von der Konzentration der Nichtelektrolyten; 3. von dem Gehalt an korpuskulären Elementen; 4. von der Temperatur. Hat man aus anderweitigen Erfahrungen die Berechtigung, eine Änderung von den unter 2—4 aufgezählten Faktoren auszuschließen, so liefert die Bestimmung der Leitfähigkeit Aufschluß über den Gehalt der betreffenden Flüssigkeit an Elektrolyten. Da unter diesen Elektrolyten die anorganischen meist allein die für die Stromleitung in Betracht kommenden sind, die organischen aber vernachlässigt werden dürfen, gibt die Bestimmung der Leitfähigkeit, namentlich bei vergleichenden Untersuchungen, Auskunft über die Veränderungen des Gehalts an anorganischen Elektrolyten. Die Rücksichtnahme auf die soeben auseinandergesetzte Einschränkung ist nicht außer acht zu lassen.

Korrekturen für die Leitfähigkeit: Der wahre Wert, den die Leitfähigkeit haben würde, wenn keine Nichtelektrolyten vorhanden wären, läßt sich in einigen Fällen ermitteln. Für das Eiweiß des Blutserums haben Bugarszky und Tangl gefunden, daß je 1 g Eiweiß in 100 cm³ des Blutserums die elektrische Leitfähigkeit um 2,5 % vermindern. Es ist demnach für Serum die korrigierte Leitfähigkeit

$$\lambda_c = \lambda \frac{100 - 2,5 p}{100}$$

wo λ die beobachtete Leitfähigkeit des Serums, p der Eiweißgehalt in 100 cm in Grammen ist.

Für Lösungen, welche korpuskuläre, suspendierte Elemente enthalten, hat Oker-Blom Formeln angegeben, um die Leitfähigkeit der Lösung zu ermitteln. Wenn λ die Leitfähigkeit der Lösung und λ' die des Präparates bei gleichmäßiger Verteilung des suspendierten Körpers darstellen, sowie l die Volumenprocente der Lösung und u die des nicht leitenden Körpers bedeutet, so ist

$$\lambda' = \lambda \left(\frac{\sqrt[3]{1}}{\sqrt[3]{1 + \frac{2}{3}u}} + K \right) \text{ oder einfacher } \lambda' = \lambda \left(\frac{1}{\sqrt{1 + 2u}} + K' \right)$$

wo K und K' Konstanten sind, die sowohl positive, als auch negative Werte haben können und von der Form des suspendierten Körpers abhängen. Es ist

$$K = \frac{\lambda' - \lambda l}{u l \lambda} \quad K' = \frac{\lambda}{l \lambda}$$

Bestimmung der Blutkörperchenvolumina, beziehentlich des Serumvolum im Blute.

Der Einfluß von suspendierten Partikeln kommt zur Geltung beim Blute. Es läßt sich unter Berücksichtigung des Einflusses der Blutkörperchen auf die Leitfähigkeit des Blutes eine rechnerische Beziehung zwischen den Leitfähigkeiten von Blut und Serum und den Volumina des Serums oder der Blutkörperchen ableiten. Die Formel von Stewart hierfür lautet:

$$p = \frac{\lambda_{(b)}}{\lambda_{(s)}} (180 - \lambda_b - \sqrt{\lambda_{(b)}}) \text{ oder einfacher}$$

$$p = \frac{174 \lambda_{(b)} - (\lambda_{(b)})^2}{\lambda_{(s)}}$$

p = Anzahl cm^3 Serum in 100 cm^3 Blut, λ_b die elektrische Leitfähigkeit des Blutes, λ_s die des Serums bei 5° .

Die Formeln von Stewart sind empirisch gefundene und gelten zunächst nur für das Hundeserum. Eine andere Methode zur Bestimmung des Blutkörperchenvolums aus der Leitfähigkeit hat Oker-Blom angegeben. Man bestimmt die Leitfähigkeit λ' des Blutes und λ des Serums, rechnet das Verhältnis $\frac{\lambda}{\lambda'}$ aus und bedient sich sodann einer graphischen Tabelle,

in der die Werte $\frac{\lambda}{\lambda'}$ als Abscisse und die zugehörigen Volumenprocente der Blutkörperchen als Ordinaten eingetragen sind (Fig. 23). Das Verhältnis $\frac{\lambda}{\lambda'}$ ist bei einem und demselben Blutkörpergehalte konstant und sowohl vom absoluten Wert der Leitfähigkeit des Serums, als auch von der absoluten Größe der einzelnen Blutkörperchen unabhängig.

Tabelle von Oker-Blom zur Bestimmung des prozentischen Volums der Blutkörperchen.

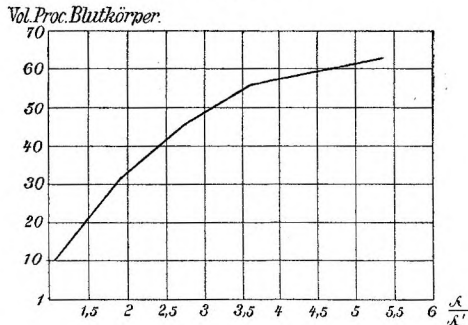


Fig. 23.

Anmerkung: Die Beziehungen der Blutkörperchen zur Leitfähigkeit haben die Grundlage abgegeben, um mit Hilfe von Leitfähigkeitsbestimmungen des Blutes zu untersuchen, ob Stoffe in die Blutkörperchen eingedrungen sind oder nicht (Oker-Blom). Die Methode ist aber Einwänden ausgesetzt. (Siehe hierüber Oker-Blom und Hamburger.)

Einfluß korpuskulärer Substanzen auf die Leitfähigkeit der Milch.

Bei der Milch sind suspendierte Stoffe wie das Fett, Eiweißstoff und und Kalziumphosphat nicht leitende Partikelchen, welche die Leitfähigkeit der Milch herabdrücken. Dieser Einfluß muß bei den einzelnen Milchsorten, welche sich in dieser Beziehung voneinander unterscheiden, in Rechnung gesetzt werden.

Abteilung 5. Osmotische Analyse der tierischen Flüssigkeiten mit Hilfe von Gefrierpunkt und Leitfähigkeit.

Erst die Verbindung der Bestimmung des Gefrierpunktes mit derjenigen der Leitfähigkeit ermöglicht bei den aus Leitern und Nichtleitern zusammengesetzten tierischen Flüssigkeiten eine genauere physikalisch-chemische Analyse, welche unter gewissen Bedingungen die spezielle Bestimmung einzelner chemischer Bestandteile erspart. Man erfährt durch die Verbindung beider Methoden die osmotische Konzentration und den Anteil der Leiter, also auch der Nichtleiter an derselben; hierdurch ist für die Kenntnis der physiologischen Vorgänge viel gewonnen. Wo der Natur der Sache nach nur geringe Flüssigkeitsmengen zur Verfügung stehen, ist die aus Kryoskopie und Leitfähigkeitsbestimmung kombinierte Methode wertvoll. Aber viel bestimmtere Angaben können gemacht werden, wenn noch hinzukommt die chemische Analyse einzelner Bestandteile der tierischen Flüssigkeiten. Hierüber im folgenden näheres.

Osmotische Analyse des Blutserums. (Bugarszky und Tangl.) Über Gefrierpunktsbestimmung des Serums siehe oben. Die Leitfähigkeit wird nach der beschriebenen Methode ausgeführt. Es ist auf die Leitfähigkeit von Einfluß, auf welche Methode das Serum gewonnen wurde; die Leitfähigkeit des spontan abgesetzten Serums ist größer als diejenige des Serums von defibriniertem Blute. Ferner ist die Leitfähigkeit von frischem und altem Serum verschieden. Bei der großen Feinheit der Leitfähigkeitsbestimmung ist die Erhaltung des unveränderten Zustandes des Serums anzustreben. Die gefundene Leitfähigkeit wird nach der oben angegebenen Formel von Bugarszky und Tangl korrigiert, wozu die Ermittlung des Eiweißgehaltes benötigt wird. Aus der korrigierten Leitfähigkeit wird die Konzentration der Elektrolytmolekel unter der Annahme berechnet, daß das elektrische Leitvermögen des Blutserums hauptsächlich durch NaCl und Na_2CO_3 bedingt wird. (Die übrigen im Blut vorkommenden anorganischen Leiter sowie die nur spurweise vorkommenden organischen Leiter, milchsaure, fettsaure und harnsaure Salze können vernachlässigt werden. Näheres siehe darüber bei Bugarszky und Tangl.) Die Berechnung gestaltet sich folgendermaßen. Im Serum wird titrimetrisch der Chlorgehalt bestimmt und auf diese Weise der Chlornatriumgehalt des Serums gefunden. Aus den Messungen Kohlrauschs (Leitfaden der prakt. Physik 10. Aufl. p. 639) berechnet man durch Interpolation die elektrische Leitfähigkeit einer Lösung von gleichem Chlornatriumgehalt wie das Blutserum. So wird die dem NaCl -Elektrolyt des Serums entsprechende Leitfähigkeit gefunden. Zieht man diesen Wert von der korrigierten Leitfähigkeit des Serums ab, so ergibt sich die Leitfähigkeit der Nicht- NaCl -Elektrolyte des Blutserums. Unter der Annahme, daß alle „Achlorid-Elektrolyte“ aus Na_2CO_3 bestehen, berechnet man aus Kohlrauschs Tabellen die Konzentration jener Na_2CO_3 -Lösung, die dieselbe Leitfähigkeit besitzt, wie die für die Achlorid-Elektrolyte des Serums restierende.

(Der Fehler, welcher begangen wird, daß die Konzentration der Achlorid-Elektrolyte als Na_2CO_3 ausgedrückt wird, beträgt nicht mehr als 1—2 Hundertstel der Gesamtelektrolytkonzentration.) Es ist nun noch der Dissoziationsgrad zu berechnen, welcher 1. dem gefundenen NaCl , 2. dem berech-

neten Na_2CO_3 -Gehalt entspricht. Wenn m die Zahl der Grammolekel ohne Dissoziation ist, so wird infolge der Dissoziation die Zahl der Molekeln

$$n = i m = m [1 + (K-1)\alpha].$$

Für NaCl ist $K = 2$, für Na_2CO_3 $K = 3$.

Ist auf diese Weise die Konzentration der Elektrolytmolekel C_e im Molen ausgedrückt, wobei die Ionen als Moleküle gerechnet werden, so ermittelt man die osmotische Gesamtkonzentration C_o durch die Gefrierpunktsbestimmung. Es ist dann $C_o - C_e = C_{ne}$ die Konzentration der Nichtelektrolyte. Im wesentlichen kommen hierbei nur die organischen Moleküle in Betracht.

Beispiel. (Bugarszky und Tangl.)

Pferdeserum.

- | | |
|---|--|
| I. 1. NaCl Gehalt | = 0,086 G. Äquiv. im Liter |
| 2. Dissoziationsgrad einer NaCl Lösung dieser Konzentration | $\alpha = 0,841$ |
| 3. Im Blutserum $\text{NaCl} + \text{Na} + \text{Cl}$ Molen | = 0,158 Mol pro Liter (C_{NaCl}). |
| II. 1. Korrig. spez. elektr. Leitfähigkeit des Serums (bei 18°C). | $118,0 \times 10^{-8}$ (reziprok Siemens Einheit mit 1,063 multipliziert gleich der neuen Einheit in Ohm). |
| 2. Spez. elektr. Leitfähigkeit (bei 18°C) einer NaCl Lösung von der Äquiv. Konzentration 0,086 G. pro Liter nach Kohlrausch | $74,9 \times 10^{-8}$ |
| 3. Von der Leitfähigkeit des Serums entfallen auf die Achlorid Elektrolyte | $43,1 \times 10^{-8}$ |
| 4. Nach Kohlrausch entspricht der Leitfähigkeit $43,1 \times 10^{-8}$ eine Na_2CO_3 Lösung vom Gehalt | 0,0298 g Molekel im Liter |
| Dissoziationsgrad dieser Na_2CO_3 Lösung | (α) 0,692 |
| Die osmotische Konzentration dieser Lösung ($\text{Na}_2\text{CO}_3 + \overset{+}{\text{Na}} + \overset{+}{\text{Na}} + \text{CO}_3$) ($1 + [3-1] 0,692$) | 0,071 Mol Ionen pro Liter. |
| 0,298 | |
| III. 1. Konzentration der gesamten Elektrolyte des Serums | 0,229 Mol pro Liter. (C_e) |
| Gefrierpunktserniedrigung | $\Delta = 0,527^\circ \text{C}$ |
| osmotische Konzentration $\frac{0,527}{1,85}$ | $C_o = 0,285$ Mol pro Liter |
| $C_o - C_e$ | = 0,056 Mol pro Liter. (C_{ne}) |

Die geschilderte Methode liefert für die im Serum gesuchten Konzentrationen zwar nicht genau richtige Werte. Die osmotische Gesamtkonzen-

tration ist gültig für die Temperatur des Gefrierpunktes, die Leitfähigkeiten sind mit Rücksicht auf die unentbehrlichen Kohlrauschschen Zahlen bei 18° bestimmt; bei Körpertemperatur ist aber osmotische Konzentration und die Dissoziation eine andere. Die Berechnung des Dissoziationsgrades ist, wie Bugarszky und Tangl selbst angeben, insofern nicht streng richtig, als das gleichzeitige Vorhandensein derselben Ionen im NaCl und Na_2CO_3 sowie die Nichtleiter den Dissoziationsgrad beeinflussen. Trotz dieser Abweichungen, sowie der besprochenen vereinfachenden Annahmen sind für das Blutserum die mit dieser Methode gefundenen Konzentrationswerte unbedenklich als richtige zu verwerten.

Osmotische Analyse des Harns. Die zur Ausführung der osmotischen Analyse des Harns neben der früher beschriebenen Kryoskopie notwendige Leitfähigkeitsbestimmung wird technisch nach den obigen Vorschriften gemacht. Bei der großen Zersetzlichkeit des Harnes ist derselbe zu diesem Zwecke entweder möglichst bald zu benutzen, oder er muß durch ein Antiseptikum vor der Zersetzung bewahrt werden. Einen unbedingten Schutz gibt aber die Anwendung eines Antiseptikums nicht; abgesehen von etwaigen Einflüssen eines nicht gut entfernbaren antiseptischen Stoffes sind noch Veränderungen in der Harnzusammensetzung nicht bakterieller Natur möglich. Schon eine Temperatur, die niedriger als die Körpertemperatur ist, kann bekanntlich Ausfällen von Stoffen veranlassen. Nicht gleichgültig für die Genauigkeit der Leitfähigkeitsbestimmung ist das Vorhandensein von schleimigen Trübungen; sie üben einen Einfluß aus. Da dieselben erst im Ureter oder aus der Blase hinzukommen, wird der wahre Wert der Leitfähigkeit des in der Niere abgesonderten Harnes herabgedrückt. Ein etwaiger Eiweißgehalt des Urins ist in der oben angegebenen Weise nach der Formel von Bugarszky und Tangl in Rechnung zu setzen. Man begeht hierbei einen kleinen Fehler, indem diese Korrektion streng genommen nur für die Eiweißkörper des Blutserums gilt. Die Leitfähigkeitsbestimmung des Harns führt man entweder bei 18° (wegen der Benutzung der vorhandenen Tabellen) oder bei Körpertemperatur aus*). Zur Verwendung kommt, wie bei Stoffwechselversuchen, der ganze Tagesharn oder, bei vergleichenden Untersuchungen nach experimentellen Eingriffen, einzelne Harnportionen.

Eine osmotische Analyse von der Genauigkeit wie diejenige des Blutes ist beim Harn zurzeit nicht möglich. Wenn der Harn Kochsalz enthält, (er kann Kochsalzfrei sein) kann man wie beim Serum die auf Kochsalz kommende Leitfähigkeit berechnen. Doch wird der Ansatz für die Dissoziation des NaCl deshalb noch weniger richtig wie beim Serum, weil im Harn noch mehr andere die Dissoziation beeinflussenden Ionen vorhanden sind. Eine wirklich genaue Auswertung der Achloridelektrolyte des Harnes ist nicht möglich, weil im Harn sehr zahlreiche Stoffe an der Leitfähigkeit beteiligt sind. Steyrer hat folgenden Weg eingeschlagen um die Elektrolytkonzen-

*) Anmerkung: Steyrer setzt als Temperaturkoeffizient des Harns 0,02 und reduziert die gefundene Leitfähigkeit auf 18° nach der Formel von Ostwald

$$K_{18} = \frac{K -}{1 + 0,00(t - 18)}.$$

tration des Harns zahlenmäßig auszudrücken. Nach Bestimmung der Leitfähigkeit des Harns wurde die Konzentration der leitenden Moleküle ausgedrückt durch den Normalgehalt einer NaCl Lösung von gleicher Leitfähigkeit η , der Dissoziationsgrad α , welcher dieser Konzentration entspricht, wird ermittelt und somit die Konzentration der gesamten leitenden Moleküle C_s gefunden; schließlich wurde, nach Ermittlung des wirkenden Cl Gehaltes, die Konzentration der nicht aus NaCl herrührenden Moleküle ε berechnet. Dreser hat, unter Verzicht auf genauere Konzentrationsbestimmungen, mit Hilfe der Gefrierpunktserniedrigung und Leitfähigkeit die Ausfuhr von Stoffen durch den Harn analysiert. Ist $\frac{v}{t}$ das Minutenvolum des Harns, A die Gefrier-

punktserniedrigung, so ist $A \propto \frac{v}{t}$ die Gesamtzahl der Moleküle der ausge-

schiedenen osmotisch wirksamen Bestandteile; $\frac{v}{t} \propto \lambda$ oder $\frac{v}{t} \propto A$ (A = elektr. Leitungswiderstand des Harns) ist ein Maß für die verschiedenen Salzmen gen. Bei gleichbleibendem Gefrierpunkt A^0 läßt sich das Verhältnis der Nichte lektrolyte (vornehmlich Harnstoff) zu den Elektrolyten durch das Produkt $A \propto \Omega$ feststellen. Da das Leitvermögen $\lambda = \frac{1}{\Omega}$ wächst mit der Anzahl der dissoziierten Moleküle bez. mit dem Salzgehalt, muß $A \propto \Omega$ abnehmen bei steigendem Salzgehalt, steigen bei höherem Nichte lektrolyt-gehalt.

Die rechnerischen Werte $\frac{A^0}{\text{NaCl}}, \frac{A^0}{\lambda}, \frac{\lambda \times 10^6}{h}, \frac{\text{Leitfähigkeit}}{\text{Aschengehalt}}$ bedürfen methodisch keiner Besprechung; über ihre Bedeutung und Verwendbarkeit vergl. die Spezialschriften.

Osmotische Analyse anderer Flüssigkeiten. In der Technik und Berechnungsart ist die Bestimmung der Leitfähigkeit anderer tierischer Flüssigkeiten analog derjenigen bei Blut und Harn. Bei der Milch kommt in Betracht die Leitfähigkeitsherabsetzung, den die suspendierten Partikel und der Eiweißgehalt der Milch haben; sodann daß die Art der Gewinnung der Milch und der Zustand derselben einen sehr großen Einfluß auf die jeweilige Leitfähigkeit haben. Verbunden mit der Gefrierpunktsbestimmung wird die Ermittlung der Leitfähigkeit sowohl bei der Milch wie bei den anderen tierischen Flüssigkeiten einen angenäherten Ausdruck für die Gesamtkonzentration einerseits und die Konzentration an Elektrolyten anderseits geben; der Grad der Annäherung wird wachsen mit der Zahl der einzelnen Stoffe, welche man in den betreffenden Flüssigkeiten einzeln chemisch bestimmen kann.

Physiologische Leitfähigkeit. (Oker-Blom). Verdünnt man irgend eine tierische Flüssigkeit und berechnet man die so erhaltene Leitfähigkeit auf diejenige der unverdünnten Flüssigkeit, so erhält man die der betreffenden Verdünnung entsprechende „physiologische Leitfähigkeit“. Dieselbe wächst mit der Verdünnung. Man kann den Einfluß der Verdünnung auf die Leitfähigkeit benutzen, um den „Dissoziationsgrad“ der betreffenden Flüssigkeit zu bestimmen. Wenn bei wachsender Verdünnung der Wert

für die physiologische Leitfähigkeit nicht mehr zunimmt, kann die Flüssigkeit als vollständig dissoziiert angesehen werden und diese Leitfähigkeit dividiert in die unverdünnte Leitfähigkeit gibt den Dissoziationsgrad α der Flüssigkeit unverdünnt. Der richtige Wert, wie bei einer einfachen Lösung, wird hierbei nicht erhalten, weil bei der Verdünnung einer tierischen Flüssigkeit nicht allein der von der Verdünnung abhängige Dissoziationsgrad geändert wird, sondern auch mehrere andere Faktoren, welche auf die Leitfähigkeit von Einfluß sind, z. B. bei eiweißhaltigen Flüssigkeiten der Eiweißgehalt, oder der Einfluß anderer Nichtleiter.

Abteilung 6. Biologische Methoden zur Bestimmung des osmotischen Druckes.

1. Plasmolytische Methode.

Die plasmolytische Methode (H. de Vries) stellt die Konzentration derjenigen Lösung fest, welche denselben osmotischen Druck besitzt, beziehentlich isosmotisch oder isotonisch ist, mit dem Zellsaft gewisser Pflanzen. Werden bestimmte Pflanzenzellen in Lösungen gebracht, welche konzentrierter sind als ihr Inhalt, so zieht sich der Protoplast von der Zellmembran zurück: ist die Konzentration kleiner als diejenige des Zellinhaltes, so tritt die Ablösung nicht ein. Man sucht diejenige Konzentration auf, bei welcher gerade noch Plasmolyse eintritt und eine ganz benachbarte Konzentration, bei welcher sie nicht mehr eintritt; zwischen diesen beiden Grenzen liegt diejenige Konzentration der Lösung, welche mit dem Zellinhalt isotonisch ist. Werden mit verschiedenen Lösungen an denselben Pflanzenzellen die Konzentrationen aufgesucht, welche isotonisch mit dem Zellinhalt sind, so sind diese Lösungen auch unter sich isotonisch. Man benutzt entweder *Tradescantia discolor* oder *Curcuma rubricaulis* oder die Blattschuppen von *Begonia manicata*; letztere ist für nicht zu saure Flüssigkeiten brauchbar; die erstgenannte Pflanzenzelle ist am leichtesten jeder Zeit zu haben. Man schneidet mit einem Rasiermesser dünne Scheibchen Pflanzengewebe, bringt sie in die betreffenden Lösungen und beobachtet im Mikroskop bei 60—100facher Vergrößerung, um die beiden Grenzen festzustellen. Bedingung für die Anwendbarkeit der Methode ist, daß 1. die Pflanzenzelle undurchlässig ist für die gelöste Substanz und daß 2. die letztere keine schädigende Wirkung auf das Protoplasma besitzt.

Man wendet diese Methode in der Physiologie wesentlich dazu an, um mit Hilfe der Plasmolyse zu untersuchen, mit welcher Kochsalzlösung eine tierische Flüssigkeit, z. B. Serum oder Harn isotonisch ist. Hamburger z. B. gibt an, daß die seröse Flüssigkeit, welche in der Hälfte der Zellen im Gesichtsfeld Plasmolyse hervorgerufen hat, isotonisch ist mit der Kochsalzlösung, welche dasselbe herbeigeführt hat. Zuerst wird diejenige Kochsalzlösung aufgesucht, welche mit dem Pflanzenzellsaft isotonisch ist. Hinsichtlich der tierischen Flüssigkeit kann der Fall eintreten, daß sie konzentrierter oder weniger konzentriert als die mit dem Zellsaft isotonische Kochsalzlösung ist; im ersteren Fall wird sie so lange mit Wasser verdünnt, im zweiten Fall durch Zusatz von z. B. 5 % Kochsalzlösung konzentriert, bis der gewünschte plasmolytische Effekt eintritt, worauf man aus der Verdünnung bez. Konzentrierung die Konzentration der Kochsalzlösung, mit welcher die ursprüngliche

Lösung isotonisch ist, berechnet. Die Methode ist von einer großen Genauigkeit und gibt Werte, die innerhalb 0,1 % genau sind. Sie kann auch gebraucht werden, um zu experimentellen Zwecken Lösungen herzustellen, die mit einer Standardlösung isotonisch sind.

Die isotonischen Koeffizienten: Lösungen, welche auf Grund der plasmolytischen Methoden als isotonisch befunden werden, verhalten sich in ihren Konzentrationen teils wie ihre Molekulargewichte, teils aber wie ihre Molekulargewichte multipliziert mit einer bestimmten Zahl, von de Vries isotonische Koeffizienten genannt. Dies rührt von dem Einfluß der elektrolytischen Dissoziation her. Die isotonischen Koeffizienten, welche bei der Vergleichung von zwei nicht zur gleichen Gruppe von Substanzen gehörenden Stoffe angewendet werden, sind

Für organische metallfreie Verbindungen	(z. B. Rohrzucker)	2
für d. Alkalisalze der einbasischen Säuren	(z. B. NaCl)	3
für d. neutralen Alkalisalze d. zweibasischen Säuren	(z. B. K_2SO_4)	4
für d. neutralen Alkalisalze d. dreibasischen Säuren	(z. B. Na_3BO_3)	5
für d. Erdalkalisalze d. einbasischen Säuren	(z. B. $MgCl_2$)	4

Diese isotonischen Koeffizienten sind wiederum die Summe von folgenden partiellen Koeffizienten

jeder Säurerest	2
jedes Atom eines Alkalimetalls	1
jedes Atom eines Erdalkalimetalls	0

Berechnungsbeispiel: Eine Lösung von $2 \times 58,5$ gr NaCl pro Liter ist isotonisch mit einer Lösung von 3×342 gr Rohrzucker pro Liter. Folglich eine NaCl Lösung von 0,9 % isotonisch mit einer Rohrzuckerlösung von

$$\frac{0,9}{2 \times 58,5} \times 3 \times 342 = 7,89 \%$$

Die isotonischen Koeffizienten sind für den praktischen Gebrauch abgerundete Zahlen und entsprechen deshalb nicht genau dem Grade der Dissoziation.

Osmotometrische Methode von Overton. Overton benutzt die Plasmolyse um festzustellen, ob bestimmte gelöste Substanzen auf diosmotischem Wege in das Protoplasma eindringen oder nicht. Zunächst wird mit der Lösung eines unschädlichen Stoffes von bekannten Molekulargewicht (eventuell auch bekannter Dissoziation) die plasmolytische Grenzkonzentration aufgesucht. Sodann wird der zu untersuchende Stoff zu einer Konzentration aufgelöst, daß dieselbe zur plasmolytischen Grenzkonzentration des ersten sich verhält, wie die beiderseitigen Molekulargewichte (bei Elektrolyten ist die Dissoziation in Rechnung zu ziehen). Da beide Lösungen dann isotonisch sind, wird auch die zweite gerade beginnende, dauernde Plasmolyse hervorrufen, wenn deren gelöste Substanz nicht in das Protoplasma dringt. Ist die zu untersuchende Verbindung wenig löslich oder schon bei niedriger Konzentration für die Zelle schädlich, so löst man eine kleine Menge dieses Körpers in der ersten Lösung auf und beobachtet, ob die Plasmolyse eine dauernde Zunahme erfährt oder nicht. Im ersten Falle dringt der untersuchte Körper nicht merklich in das Protoplasma ein.

Methode der gerbstoffhaltigen Zellen. (Overton). Zum Studium des Eindringens von Alkaloiden, sowie auch anderer Stoffe, die mit Gerb-

stoff einen Niederschlag geben, in die Zelle verwandte Overton gerbstoffhaltige Zellen, insbesondere die Fäden von *Spirogyae*. Das Eindringen der Stoffe wird kenntlich durch das Auftreten eines Niederschlags in Form von Tropfen. (Die theoretische Diskussion dieser Erscheinungen siehe Overton).

Genauigkeit der plasmolytischen Methode. Zum Zwecke der Vergleichung zweier Lösungen auf ihre Isotonie, somit auch zur Messung des osmotischen Druckes einer Lösung verglichen mit einer anderen, ist die plasmolytische Methode von einer großen Genauigkeit, jedenfalls von derselben wie die Gefrierpunktsbestimmung. Zum Studium der Permeabilitätsverhältnisse von Zellen ist dieselbe nach Hamburger weniger genau. Das Eintreten von Plasmolyse, welche von einer bestimmten Konzentration an nicht mehr zurückgeht, ist zwar beweisend für Nichtpermeabilität der Zelle für den betreffenden Stoff. Hingegen kann ein isosmotischer Austausch zwischen der umgebenden Flüssigkeit und den Stoffen des Zellinhaltes nicht hinreichend scharf mit der plasmolytischen Methode erkannt werden.

2. Blutkörperchenmethode von Hamburger.

Prinzip: Unterhalb einer bestimmten Konzentration verursachen Salzlösungen Farbstoffaustritt aus roten Blutkörperchen. Salzlösungen, welche einen beginnenden Farbstoffaustritt aus demselben Blut veranlassen, erweisen sich untereinander als isotonisch, besitzen denselben osmotischen Druck. Beim Vergleich von Lösungen verschiedener Stoffe, die eben Farbstoffaustritt veranlassen, gelten die oben genannten isotonischen Koeffizienten. Ihre rechnerische Verwertung ist die gleiche wie oben.

Bestimmung des osmotischen Druckes von Lösungen. Voraussetzung der Anwendung der Blutkörperchenmethode zu diesem Zwecke ist, daß die zu untersuchende Lösung mit einer Lösung verglichen werden kann, deren bekannter osmotischer Druck oder deren bekannte Konzentration als Ausgangspunkt dient. Man bringt etwa 20 cm³ der Vergleichslösung und der zu untersuchenden Lösungen in Reagensgläser, versetzt dieselben mit 0,5 cm³ defibriniertem Blut, z. B. Rinderblut, vermischt und läßt stehen, bis die Blutkörperchen sich zu Boden gesetzt haben. Hat die Vergleichslösung gerade die Grenzkonzentration, bei welcher sich die Blutkörperchen in einer farblosen Flüssigkeit absetzen, so sind bei den zu untersuchenden Lösungen die beiden Konzentrationen zu ermitteln, bei welcher einerseits gerade eine farblose Schicht und andererseits gerade eine schwachrot gefärbte Schicht stehen bleibt; hiermit ist die Grenzkonzentration der mit der Vergleichslösung isotonischen Flüssigkeit gefunden. Bei Salzlösungen läßt sich hierbei eine Genauigkeit von 0,1 % und weniger erreichen. Von Druck und Temperatur ist der Hämoglobinaustritt unabhängig; hingegen erfordert defibriniertes Blut eine etwas höhere Konzentration zum Unterbleiben des Farbstoffaustrittes als nicht defibriniertes. Ausgeschlossen bei dieser Methode sind Lösungen von Säuren, von Laugen, von Chlorammonium, von Harnstoff und Glycerin.

Eine besondere Anwendung dieser Methode zur Herstellung isotonischer Lösungen von etwas größerer Konzentration, welche zur intravenösen Injektion dienen sollen, rührt von Magnus her. Nach einer konzentrierten Ausgangslösung von bekanntem Gehalt wurde mit Hilfe der Blutkörperchen-

methode die ihr isotonische zweite Lösung hergestellt. Die Isotonie wird also bei größerer Verdünnung hergestellt; dies hat den Vorzug gegenüber der Bestimmung mit Hilfe der Gefrierpunkterniedrigung, daß die gleiche osmotische Spannung für Verdünnungen ermittelt wird, welche denen sehr viel näher kommen, die die betreffenden Infusionsflüssigkeiten im Körper erleiden, wobei also auch der Dissoziation Rechnung getragen wird, und zweitens dienen als Reagens tierische Zellen.

Anwendung der Blutkörperchenmethode zur Untersuchung des Übertrittes von Substanzen in die roten Blutkörperchen. (O. Loewi). In Zentrifugierröhrchen werden 1 cm³ Blut und 20 cm³ 0,8% NaCl Lösung, bez. 20 cm³ derselben, worin der auf sein Vermögen in rote Blutkörperchen einzudringen zu untersuchende Stoff gelöst ist, gebracht. Nach kurzem Zentrifugieren haben sich die Blutkörperchen völlig abgesetzt und die darüber stehende Flüssigkeit ist ganz ungefärbt. (Der zu untersuchende Stoff muß für die Blutkörperchen im übrigen indifferent sein). Sie wird abgegossen und die Blutkörperchen werden mit 0,8 proz. NaCl Lösung versetzt zentrifugiert. Danach ist die überstehende Flüssigkeit in 1 völlig farblos, während in 2 Hämoglobinaustritt stattgefunden hat, falls von der untersuchten Substanz etwas in die roten Blutkörperchen eingetreten ist.

Bestimmung des osmotischen Druckes von Serum. (Hamburger). Die Blutkörperchen sind mit ihrem eignen Serum isotonisch. Nun ist diejenige Salzlösung, bei welcher gerade Blutfarbstoff austritt, durchaus nicht isotonisch mit dem Blutkörpercheninhalt. (Die Konzentration, bei welcher das eintritt, hängt bei den einzelnen Blutkörperchen von verschiedenen Faktoren ab). Dem entspricht auch, daß bei einer bestimmten Verdünnung das Serum ebenfalls Farbstoffaustritt bewirkt. Die so gefundene Serumverdünnung ist nun isotonisch mit derjenigen Salzlösung, bei welcher Farbstoffaustritt stattfindet. Hieraus berechnet sich, mit welcher Salzlösung das unverdünnte Serum isotonisch ist. Beispiel: Muß man z. B. 2,5 cm³ Serum mit 1,5 cm³ Wasser verdünnen, um beginnenden Farbstoffaustritt herbeizuführen und bewirkt eine 0,6 % NaCl Lösung dasselbe in gleichem Grade, so ist das unverdünnte Serum mit einer $\frac{2,5 + 1,5 \times 0,6 \%}{2,5} = 0,96 \% \text{ NaCl}$

Lösung isotonisch.

(In aller Strenge ist dieser Ansatz nicht richtig; doch heben sich die kleinen Fehler entgegengesetzter Richtung hierbei auf). Die Gefrierpunktsbestimmung ergibt denselben Wert wie diese Methode der Blutkörperchen.

Eine genaue, nur wenig Blut erfordernde Methode, hat Hamburger ausgearbeitet, die auch nur kurze Zeit erfordert. Er benutzt trichterförmige Röhren, die unten in einen kapillaren, graduierten zugeschmolzenen Hals übergehen, der 0,04 cm³ faßt. Das Absitzen in diesen Röhren erfolgt beschleunigt mit Hilfe der Zentrifuge. Da nach des Urhebers Meinung seiner Methode jedoch die Gefrierpunktsbestimmung vorzuziehen ist, wenn man im Besitz einer für kleine Mengen eingerichteten Gefrierapparates ist, so sei wegen der Details auf Hamburgers Beschreibung im Osmot. Druck Bd. I, p. 440 verwiesen.

Bei jeder Art Anwendung der Blutkörperchenmethode wird man mit Vorteil sich der Zentrifuge und Röhrchen von stets gleichen Dimensionen

bedienen. In gewissen Fällen kann die Konstatierung der Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins durch ein Spektroskop die Bestimmung verschärfen:

Verbindung der Blutkörperchenmethode mit der Gefrierpunktsbestimmung. (Hamburger). Sind in einer Flüssigkeit (z. B. Harn) Stoffe gelöst, welche sich gleichmäßig auf Blutkörperchen und Umgebung verteilen, so lassen sie die Grenzkonzentration, bei welcher eben Blutfarbstoff austritt, unverändert. Man ermittelt nun durch Verdünnung der Flüssigkeit den Farbstoffaustritt und berechnet mit welcher Kochsalzlösung die unverdünnte Flüssigkeit isotonisch ist. Der Gefrierpunkt einer Kochsalzlösung von solcher Konzentration wird bestimmt oder berechnet. Der Wert wird abgezogen von dem Werte des Gefrierpunktes der ursprünglichen Flüssigkeit und man erhält in dieser Differenz den Anteil der sich gleichmäßig auf Blutkörperchen und Umgebung verteilenden Substanzen. Beim Harn würde das vor allem der Harnstoff sein. (Der Grundgedanke dieser Methode kehrt in der oben beschriebenen, von O. Loewi später veröffentlichten Methode wieder).

3. Bestimmung des osmotischen Druckes mit dem Hämatokrit.

Prinzip: Das von Grijns und Hedin stammende Verfahren beruht auf der Tatsache, daß das Volum der roten Blutkörperchen sich ändert, wenn sie in Lösungen gebracht werden, deren osmotischer Druck von demjenigen ihres Inhalts verschieden ist. In Lösungen, deren osmotischer Druck größer ist, wird das Volum der Blutkörperchen kleiner, in solchen, deren osmotischer Druck kleiner ist, umgekehrt größer, beides infolge von Wasser Ein- oder Austritt. Alle Lösungen, welche gerade das Blutkörperchenvolum unverändert lassen, sind untereinander und mit dem zugehörigen Blutserum isotonisch. Hierauf gründet sich ein Verfahren zur Bestimmung des osmotischen Druckes von Serum. Andererseits, da die Volumänderung durch den Unterschied des osmotischen Druckes von Flüssigkeit und Blutkörpercheninhalt hervorgerufen wird, sind Lösungen, welche die gleiche Volumänderung bewirken, untereinander isotonisch. Die zur Messung des Blutkörperchenvolum dienende Vorrichtung ist der Hämatokrit, ein graduiertes Röhrchen, in dem durch Zentrifugieren eine Scheidung von Blutkörperchen und darüber stehende Flüssigkeit bewirkt wird. Nicht anwendbar ist die Methode für alle Stoffe, welche Hämolyse bewirken, und für solche gelöste Substanzen, welche zwar am osmotischen Druck der Flüssigkeit einen Anteil haben, aber weil sie in die Blutkörperchen eintreten, das Volum der Blutkörperchen nicht beeinflussen. Mit Rücksicht auf letzteren Punkt dient die Methode auch dazu, die Permeabilität der Blutkörperchen für Stoffe zu untersuchen.

Der Hämatokrit: Es sind eine Reihe von Hämatokriten beschrieben worden, von welchen die von Kottmann und von Hamburger konstruierten Formen bisher die genauesten Resultate liefern.

Der Kottmannsche Präzisionshämatokrit (verfertigt von Optiker Büchi in Bern) besteht aus Röhrchen, deren Lichtweite 0,5 mm, deren Länge $12\frac{1}{2}$ cm, der Kubikinhalt 0,092 cm³ beträgt. Die Graduierung erfolgt in Abständen von 0,5 mm; es bedeuten die Zwischenräume Volumina von nur 0,2 Proz. des Gesamtröhrcheninhalts; mit Hilfe der Lupe kann bis auf 0,05 Proz. geschätzt werden. Die feine Einteilung beschränkt sich auf die Grenzzahlen 8—52 Proz., die Volumina vor und nachher sind durch ampullenartiges Aufblasen der Enden der Röhrchen auf ein Minimum reduziert. Die Röhrchen

kommen behufs absolut sicheren Verschuß in einen eigenen Zentrifugenaufsatz. Siehe Fig. 24a-c.

Durch die Schraube, welche durch a geht, kann das Röhrchen zwischen den mit Kautschukplatten belegten Widerlagern (b) wie in einem Schraubstock so zusammen-

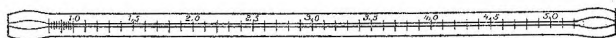


Fig. 24a.

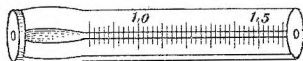


Fig. 24b.

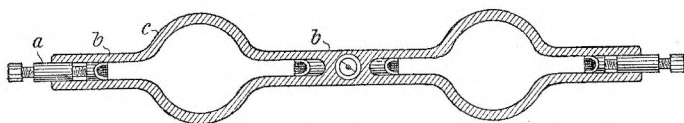


Fig. 24c.

gepreßt werden, daß jeder Substanzverlust beim Zentrifugieren absolut unmöglich wird. Damit die Röhrchen zur Vermeidung jeden Blutverlustes beim Einspannen horizontal in den Verschuß gebracht werden können, zeigen die zentralen und peripheren Aufnahmehäse an ihrer nach oben gekehrten Fläche längsgestellte Ausschnitte. Die Ausbuchtung (c) ist nötig, damit die Finger ohne jegliche Schwierigkeit die Röhrchen plazieren können. Die Stärke der Röhrchen widersteht selbst ziemlich starkem Druck im Schraubstock.

Das Trichterröhrchen von Hamburger (siehe Figur 25) besteht aus einem Trichter, dessen Inhalt etwa $2\frac{1}{2}\text{ cm}^3$ beträgt und in einem unten zugeschmolzenen Kapillarrohr endet. Dasselbe ist in 100 Teile genau kalibriert. Der kalibrierte Teil hat bei einer Länge von 57mm einen Inhalt von $0,01\text{ cm}^3$, der Raum zwischen 2 Teilstrichen entspricht also einem Volumen von $0,0001\text{ cm}^3$. Die Röhre muß sehr genau mit Quecksilber kalibriert werden. Die Trichterröhrchen sind mit einem Ebonitkäßchen verschlossen, deren genaues Passen in dem Trichter durch einen umgelegten Kautschukring gesichert wird. (Bequemer zum Arbeiten sind Trichterröhrchen, deren kapillarer Teil $0,02\text{ cm}^3$ faßt.)

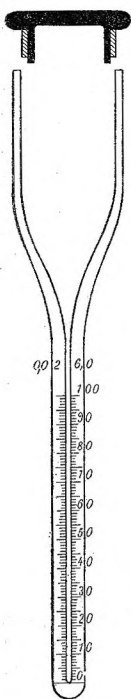


Fig. 25.

Die Füllung des Trichterröhrchens von Hamburger mit Blut ($0,02$ beziehentlich $0,04\text{ cm}^3$) erfordert einige Sorgfalt. Das Trichterröhrchen wird im oberen Teil vorerst mit der zu untersuchenden Flüssigkeit gefüllt. Die Kapillarpipette, in welcher sich das unter den nötigen Kautelen aufgesaugte Blut befindet, wird in die Flüssigkeit des trichterförmigen Röhrchens getaucht und die Flüssigkeit bis zum Teilstrich $0,02$ angesogen, dann ausgeblasen und die Prozedur mehrfach wiederholt. Vor der ersten Abmessung muß die Pipette mit einer NaCl Lösung von $0,9\%$ benetzt werden, um unter stets gleichen Bedingungen zu arbeiten. Nach Verschuß mit dem Ebonitkäßchen bewegt man die Mischung von Blut und Flüssigkeit einige Mal hin und her, da ein Umrühren mit einem Stäbchen die Mischung nicht hinreichend homogen macht.

Die Zentrifuge: Die Untersuchung mit dem Hämokrit erfordert eine sehr rasch und gleichmäßig gehende Zentrifuge. Hamburger arbeitet mit einer solchen von 3000 Umdrehungen in der Minute, Kottmann ist mit einer von Klingelfuß in Basel gebauten Zentrifuge zu noch höheren Tourenzahlen gelangt. Das Auslaufen soll ganz allmählich geschehen, damit kein Aufwirbeln des Sedimentes eintritt. Bei sehr hoher Tourenzahl wirkt auf die Blutkörperchen am Ende der Röhrrchen ein recht hoher Atmosphärendruck, z. B. bei 5000 Touren pro Minute ist am Ende eines Röhrrchens von 7 cm Länge ein Druck von 8,517 Atm. (Grijns), in der Mitte ein solcher von 2,602 Atm. Bei so großen Differenzen dürfte Flüssigkeitsverdrängung kaum ausgeschlossen sein, ein Faktum, das zu berücksichtigen ist.

Osmotische Druckmessung geringer Flüssigkeitsmengen. (Hamburger). Man nimmt 6 Trichterröhrrchen (siehe oben) und bringt in das erste 0,25 cm³ oder mehr der zu untersuchenden Flüssigkeit und in die 5 anderen dasselbe Volumen an Kochsalzlösungen steigender Konzentration. Die genannten Flüssigkeiten werden versetzt mit derselben Menge defibrierten und durch Filtrierpapier filtrierten Bluts, nämlich 0,02 beziehentlich 0,04 cm³. Nachdem die Trichterröhrrchen verschlossen und geschüttelt worden sind, werden sie $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ Stunden sich selbst überlassen und dann bis zum Eintritt von konstantem Volum zentrifugiert. Der osmotische Druck der zu untersuchenden Flüssigkeit entspricht dann derjenigen Kochsalzlösung, welche den Blutkörperchen dasselbe Volumen erteilte, wie die zu untersuchende Flüssigkeit selbst. Das Resultat läßt sich kontrollieren, indem man die Flüssigkeiten, welche in der vorigen Versuchsreihe im trichterförmigen Teil der Röhrrchen sich befinden, abhebt und in neue Röhrrchen überbringt, aufs neue mit gleichem Quantitäten Blut versetzt, schüttelt, wartet und zentrifugiert, bis zum konstanten Volum. Die nunmehrigen Sedimentvolumina sollen genau dieselbe Kochsalzlösung als diejenige anzeigen, welche mit der zu untersuchenden Flüssigkeit isotonisch ist und auch in der ersten Versuchsreihe gefunden wurde. Hat man 1 cm³ Flüssigkeit zur Verfügung, so empfiehlt es sich, Röhrrchen von 0,04 cm³ Kapillarinhalt zu verwenden; hierzu gebraucht man 0,08 cm³ Bluts. Die Kontrolle dieser Methode mit größeren Mengen vermittelt der Gefrierpunktsbestimmung hat deren Genauigkeit erwiesen. Dieselbe kleine Flüssigkeitsmenge, die man zur Bestimmung des osmotischen Druckes zur Verfügung hat, kann man zwei oder mehrmal benutzen.

Spezielle Anwendung. Zur Bestimmung des osmotischen Drucks des Serums beziehentlich Plasmas ist die Methode des Hämatokriten in der Hamburgerschen oder Kottmannschen Form sehr geeignet, insbesondere seitdem im Hirudin ein Mittel vorliegt, welches die Gerinnung des Blutes aufhebt ohne eine Veränderung des osmotischen Drucks des Blutes zu setzen. Diejenige Kochsalzlösung, welche dasselbe Volumen Blutkörperchen liefert wie das mit Hirudin versetzte Blut ist mit dem letzteren isotonisch. Sehr kleine Schwankungen des osmotischen Druckes sind hierdurch nachweisbar. Dieselbe Methode dient, wie leicht ersichtlich, auch dazu, um das Volumen der körperlichen Elemente im Blute zu bestimmen, worauf hier nur hingewiesen sein möge. Obwohl die Methode bis jetzt nicht für andere tierische Flüssigkeiten angewandt worden ist, steht deren Benutzung, unter Berück-

sichtigung der eingangs erwähnten Ausnahmen, prinzipiell nichts im Wege. Sie ist z. B. sehr brauchbar für die Untersuchung des Kammerwassers, der Glaskörperflüssigkeit, der Endo- und Perilymphe, der Zerebrospinalflüssigkeit, hingegen ungeeignet für Harn und Galle.

4. Bestimmung des osmotischen Druckes mit der plethysmographischen Methode. (Demoor).

Die Methode von Demoor beruht auf einem ähnlichen Prinzip wie diejenige des Hämatokrit. Die zu untersuchenden Zellenkomplexe beziehentlich Organe werden von Salzlösungen verschiedener Konzentration durchspült; ihr Volum bleibt konstant in annähernd isotonischen Lösungen, es schwillt in hypotonischen und verringert sich in hypertonischen Salzlösungen. Das zu untersuchende Organ (Leber, Niere, Lunge) wird unter Vermeidung jeder Verletzung und bei sorgfältiger Abbindung aller Blutgefäße, außer dem ab und zuführenden Gefäße für die Zu- und Abflußkanüle aus dem Körper entfernt. Es wird in ein Gefäß versenkt, welches mit flüssiger Vaseline gefüllt ist und mit Ausschluß von Luft verschlossen wird. Der Verschlußdeckel wird durchbohrt von Öffnungen für die beiden Kanülen und einem Rohre, welches mit einem Mareyschen Tambour verbunden ist. Letzterer dient zur Registrierung der Volumenschwankungen. Die zu durchströmenden Flüssigkeiten stehen in einer Reihe leicht auswechselbarer Mariotte'scher Flaschen. Ehe die Flüssigkeit in das Organ tritt, wird sie in einer im Wasserbade liegenden Spirale vorgewärmt. Die ganze Apparatur muß luftdicht verschlossen sein. Der Ausfluß wird so reguliert, daß er konstant bleibt; eine Änderung der Durchströmungsgeschwindigkeit ändert auch das Volum des Organs. Die durch Konzentrationsänderung herbeigeführten Volumschwankungen treten innerhalb $1\frac{1}{2}$ Minuten auf. Die Genauigkeitsgrenzen der Methode sind derart, daß z. B. eine 1% NaCl Lösung keine, eine 0,8% NaCl Lösung aber eine sehr deutliche Volumänderung gibt. Eine Quelle von Versuchsfehlern liegt darin, daß in manchen Versuchen ohne erkennbare Ursache ein Ödem des durchströmenden Organs eintreten kann.

Teil V. Bestimmung der Konzentration der H und OH Ionen und die Methoden zur Messung der Reaktionsgeschwindigkeit.

Die Konzentration der H und OH Ionen ist physikalisch-chemisch der Ausdruck für die Azidität beziehentlich Alkalinität einer Flüssigkeit, im Gegensatz zu dem durch die Titration gefundenen Werte für Azidität und Alkalinität. Die Konzentration der H und OH Ionen ist weiter von Interesse zur Beurteilung einer Reihe von Wirkungen, welche von der Ionenkonzentration abhängig sind. Die Methoden zur Messung der Ionenkonzentration beruhen meist auf der Benutzung irgend einer Wirkung der Ionenkonzentration auf einen physikalischen oder chemischen Vorgang.

1. Methode der Konzentrationsketten.

Prinzip: Die Methode beruht auf einer Messung der elektromotorischen Kraft, welche entsteht durch die Konzentrationsdifferenz der zu untersuchenden Ionen an den Elektroden eines Elementes, welches als Konzen-

trationskette bezeichnet wird. Taucht eine Metallelektrode in eine Flüssigkeit, an welche sie Ionen abgibt, so ist nach der Theorie von Nernst die entstehende Potentialdifferenz

$$\pi = \frac{0,000198}{n} T \log. \frac{P}{p} \text{ Volt abgerundet für } 0,000198: 0,0002$$

wo T die absolute Temperatur, n die Wertigkeit des Metalls, P der elektrolitische Lösungsdruck (eine Konstante) und p der osmotische Druck der zur Elektrode gehörigen Ionen ist.

Wird eine Kette zusammengestellt, welche aus zwei gleichen Metallelektroden besteht, von welchen die eine in eine konzentrierte Lösung desselben Ions taucht, die andere in eine verdünnere, so ist

$$\pi = \frac{0,0002}{n} T. \log \frac{P}{p_1} - \frac{0,0002}{n} T \log \frac{P}{p}$$

wo p_1 und p die beiden Ionenkonzentrationen sind. Die Konstante P fällt aus; es ist

$$\pi = \frac{0,0002}{n} T \log \frac{p}{p_1}; \pi = \frac{0,0002}{n} T \log \frac{c}{c_1}$$

Für verdünnere Lösungen — solche kommen fast ausschließlich in Betracht im Organismus — kann man statt des Verhältnisses der osmotischen Drucke der Ionen das der Konzentrationen $\frac{c}{c_1}$ der Lösungen einführen.

Außer dem Elektrodenpotential tritt in einer Konzentrationskette an der Berührungsstelle zweier verschieden konzentrierter Lösungen eine Potentialdifferenz, das Kontaktpotential, auf, wenn die in der Flüssigkeit vorhandenen Ionen eine ungleiche Wanderungsgeschwindigkeit haben. In gewissen Fällen, die man praktisch zu realisieren bestrebt ist, kann man das Kontaktpotential vernachlässigen. Die Potentialdifferenz an der Berührungsstelle von zwei verschieden konzentrierten Lösungen eines und desselben binären Elektrolyten ist $\pi = \frac{l_K - l_A}{l_K + l_A} \cdot \frac{0,0002}{n} \log \frac{c}{c_1}$ wo l_K und l_A die Wanderungsgeschwindigkeit von Kation bez. Anion ist.

Komplizierter ist die theoretische Behandlung in allen anderen Fällen, worauf hier nicht eingegangen wird, weil in praxi das Kontaktpotential zu beseitigen versucht wird. Die zur Messung der H und OH Ionen dienenden Konzentrationsketten sind sogenannte Gasketten. Platinierte Platin-elektroden oder mit Palladiumschwarz bedeckte Palladiumelektroden oder Goldelektroden werden mit Wasserstoff gesättigt; diese Gaselektroden, welche H Ionen liefern oder aufnehmen, werden in die durch ihren H Gehalt sich unterscheidenden Lösungen getaucht; ist die Konzentration der H Ionen in der einen Lösung bekannt und die elektromotorische Kraft der Gaskette bestimmt, so berechnet sich daraus die Konzentration der H Ionen in der anderen Lösung. Zur Bestimmung der OH Ionen werden gleich konstruierte Gasketten benutzt, deren Elektroden aber mit Sauerstoff beladen werden. Die Natur des Elektrolyten kommt bei Messungen dieser Art Ketten nicht in Betracht. Da die entstehende elektromotorische Kraft nur abhängt von dem Konzentrationsunterschied der freien Ionen (abgesehen vom Kontaktpotential), so wird mit dieser Methode der augenblicklich wirksame Azidi-

täts- oder Alkalitätsgrad einer Lösung und nicht, wie bei der Titration, die ganze Menge abspaltbaren Säure oder Basenradikals bestimmt.

Die OH Konzentration einer wässrigen Lösung kann auch gefunden werden durch Bestimmung der H Konzentration. Es ist das Dissoziationsprodukt $H \times OH$ gleich einer Konstante, nämlich $= 0.64 \times 10^{-14}$. Demnach gibt dieses Produkt, dividiert durch die experimentell gefundene H Konzentration, die gesuchte OH Konzentration. Andererseits kann man die Richtigkeit der durch Messung gefundenen Werte der H und OH Konzentration dadurch kontrollieren, daß ihr Produkt eben diese Konstante ergeben muß.

Die Berechnung der Ionenkonzentration aus der gefundenen Elektromotorischen Kraft π ergibt sich folgendermaßen:

$$\pi = \frac{0.0002}{n} T \frac{\log C}{\log x}; n \text{ für Wasserstoff ist } 1; T = 273 + \text{der Temperatur,}$$

bei welcher die Messung angestellt wurde; $\log C$ = Konzentration der angewandten HCl Lösung, beziehentlich NaOH Lösung; bei nicht ganz verdünnten HCl Lösungen muß der Wert C noch multipliziert werden mit α , dem Dissoziationsgrad. Kann das Kontaktpotential an der Grenze der beiden Flüssigkeiten berechnet werden, so ist der Wert dieses Kontaktpotentials auf der rechten Seite obiger Formel noch abzuziehen. Die elektromotorische Kraft an der Grenze zweier verschieden konzentrierter Lösungen desselben Elektrolyten

$$\pi = \frac{u-v}{u+v} \cdot 0.0575 \log \frac{c_2}{c_1} \text{ für } T = 17,0 \text{ wo } u \text{ und } v \text{ die Wanderungsgeschwindigkeiten des Kations und Anions bedeuten.}$$

Wenn zwei verschiedene binäre Elektrolyte von gleicher Ionenkonzentration nebeneinander geschaltet sind, berechnet sich nach Planck

$$\pi = 0.0575 \log \frac{u_1 + v_2}{u_2 + v_1}, \text{ wo } u_1 \text{ und } u_2 \text{ die Wanderungsgeschwindigkeit der beiden Kationen, } v_1 \text{ und } v_2 \text{ diejenige der Anionen bedeutet.}$$

(Tabelle der Wanderungsgeschwindigkeiten siehe S. 171).

Ausführung.

1. Die Messung der elektromotorischen Kraft: Die Messung der elektromotorischen Kraft der fertigen Gaskette geschieht zumeist mit Hilfe der Kompensationsmethode (Höber hat sich der Fechnerschen Methode bedient). Da die letztere eingehend in einer anderen Abteilung dieses Werkes beschrieben wird, sind hier nur die für die vorliegende Messung hervorhebendsten Punkte erörtert. Als Meßdraht dient der Ostwaldsche Meßdraht, welcher oben bei der Bestimmung der Leitfähigkeit beschrieben wurde. Der Meßdraht schließt ein Element, von dessen elektromotorischer Kraft ein durch Abzweigung gewonnener Teil dazu dient, die zu messende elektromotorische Kraft zu kompensieren; die elektromotorische Kraft des ersteren Elementes muß also größer sein als diejenige der zu messenden. Bei den in der Physiologie vorkommenden Fällen reichen hierzu ein Akkumulator oder zwei Daniell-elemente aus. In dem vom Meßdraht abgehenden Zweig befindet sich das zu messende Element mit der elektromotorischen Kraft e , das Nullinstrument,

welches die erreichte Kompensation anzeigt, und einige Hilfsapparate. Durch Verschieben am Meßdraht wird ein Widerstand w eingeschaltet (gemessen in Skalenteilen), der im Zweig Stromlosigkeit macht. Sodann wird das Gaselement vertauscht mit einem Normalelement von der elektromotorischen Kraft E und wiederum durch Verschieben am Meßdraht eine Länge W gesucht, bei der Stromlosigkeit im Zweig besteht.

$$\text{Dann ist } e = E \frac{w}{W}.$$

Als Nullinstrument dient entweder ein Kapillarelektrometer oder ein Galvanometer nach dem d'Arsonvalprinzip, oder ein Saitengalvanometer nach Einthoven. Letzteres dürfte in der neueren Form von Edelmann wegen seiner Handlichkeit, Empfindlichkeit und Aperiodizität das empfehlenswerteste Instrument sein.

Grade in physiologischen Laboratorien ist dieser wohl sonst vielfach eingeführte Apparat dadurch, daß er die Vorzüge des Kapillarelektrometers mit denen des Galvanometers vereinigt, aber frei von mehreren Nachteilen beziehentlich Unbequemlichkeiten derselben ist, besonders zu physikalisch-chemischen Messungen geeignet. Die eine der Hilfsvorrichtungen, welche

in den vom Meßdraht ausgehenden Zweig eingeschaltet wird, ist ein Kommutator, welcher gestattet entweder den die Konzentrationsketten enthaltenden Zweig oder einen parallel geschalteten anderen Zweig einzuschalten, welcher das Normalelement enthält. Ferner kommt in den Zweig entweder ein Ostwaldscher Stromtaster oder ein Elliot-scher Schlüssel, beides Vorrichtungen, welche gleichzeitig einen kurz dauernden Kontaktschluß des Elementes und Öffnung der Nebenschließung nach dem Nullinstrument bewerkstelligen.

Man schließt immer nur kurze Zeit, solange die Kompensation noch nicht erreicht ist, um möglichst wenig Strom dem Element zu entnehmen, was besonders bei Einschaltung des Normalelementes gilt. Nebenfolgende Figur 26 (nach Hamburger) gibt schematisch die Anwendung der Meßmethode.

2. Das Normalelement. Das zu diesem Zwecke dienende Kadmium-Weston Normalelement erhält man käuflich mit Prüfungsschein der Physik. Technischen Reichsanstalt z. B. von Fr. Köhler Leipzig. Da es einen äußerst geringen Temperaturkoeffizienten besitzt, kann es bei Zimmertemperatur benutzt werden. Für den steten Gebrauch bedient man sich aber nicht dieses kostbaren Normalelementes, sondern eines selbst hergestellten, welches

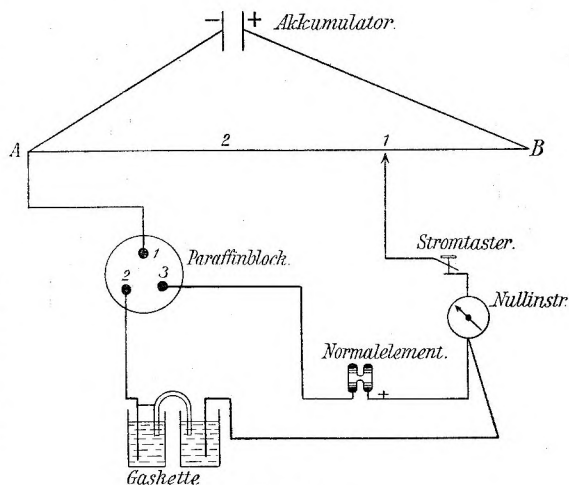


Fig. 26.

nur von Zeit zu Zeit mit dem beglaubigten Normalelement verglichen wird. Nach Ostwald ist die Herstellung des Kadmiurnormalelementes (hier ist die Hamburgersche Form abgebildet, Fig. 27) folgende:

Man füllt in den einen Schenkel des Gefäßes reines trockenes Quecksilber, in den anderen Kadmiurnamalgalam. Das Kadmiurnamalgalam wird durch zusammenschmelzen in

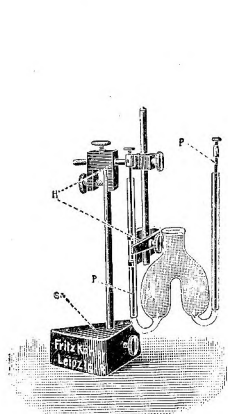


Fig. 27.

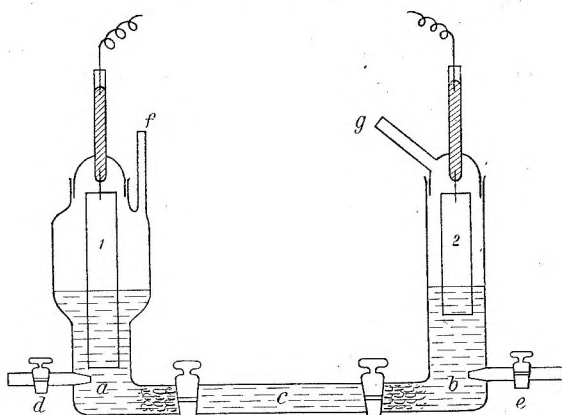


Fig. 28a.

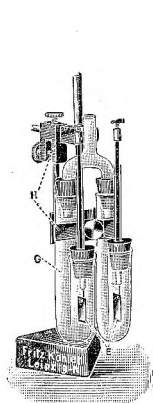


Fig. 28b.

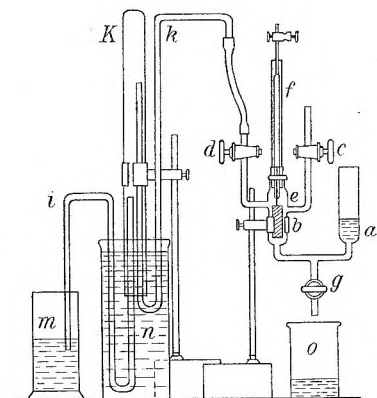


Fig. 28c.

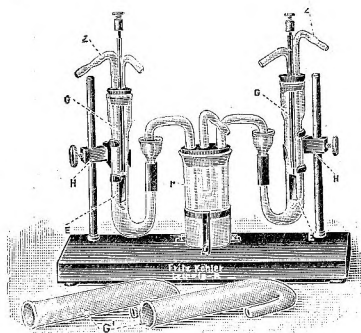


Fig. 28d.

einem reinen Reagensglas von 1 Gewichtsteil käuflichem, reinem Kadmiurn und 7–8 Gewichtsteilen reinem Quecksilber hergestellt. Das Amalgam ist bei 100° flüssig, erstarrt aber bei Zimmertemperatur zu einem Brei. Hierauf bereitet man sich eine gesättigte Kadmiurnsulfatlösung durch etwa halbstündiges Verreiben von käuflichem reinem Kadmiurnsulfat mit Wasser in einer Reibschale. Zur Herstellung der gesättigten Lösung ist etwa 1 Teil Wasser auf 1 Gewichtsteil kristallisierten Salz erforderlich. Man läßt das ungelöste Kadmiurnsulfat einigermaßen absitzen und gießt die gesättigte Lösung zu weiterem Gebrauch ab. Von dem Kadmiurnsulfatbrei wird eine Portion etwa 5 mm hoch auf das Kadmiurnamalgalam geschichtet. Eine andere Portion wird mit Merkursulfat, etwas Quecksilber und der gesättigten Kadmiurnsulfatlösung verrieben, worauf man absitzen läßt, die gesättigte Kadmiurnsulfatlösung abgießt, durch neue ersetzt, wieder verreibt und auf diese Weise das Merkursulfat von allen leichter löslichen Verunrei-

nigungen, sowie Merkursulfat nach Möglichkeit befreit. Mit dem Brei von Merkursulfat, Quecksilber und Kadmiumsulfat (der sog. Paste) wird das Quecksilber etwa 5 mm hoch bedeckt. Die beiden Schenkel werden hierauf mit etwa erbsengroßen Kadmiumsulfatkristallen und der gesättigten Kadmiumsulfatlösung angefüllt. Luftbläschen entfernt man mit einem Platindrahte. Ehe man das Gefäß mit einem Gummistopfen verschließt, sorgt man dafür, daß oben ein kleines Luftbläschen erhalten bleibt, da andererseits in der Wärme das Gefäß gesprengt werden kann. Der Stopfen wird mit Siegelack vollständig umgossen. Für den Fall, daß man nicht ein derartiges selbst gefertigtes Kadmiemelement besitzt, kann man sich mit einem Normaldaniell aushilfsweise behelfen. (Zusammensetzung: Reines amalgamiertes Zink, ZnSO_4 480 gr. Aqu. dest. 1520 gr., reines Kupfer, CuSO_4 440 gr., Aqu. dest. 1560 g; elektromotorische Kraft 1.15 Volt.)

3. Die Konzentrationsketten: Von den existierenden Formen der in der Physiologie angewandten Konzentrationsketten sind oben diejenigen von Höber, Hamburger, Foà, Asher und Farkas abgebildet.

Sie bestehen aus je zwei Schenkeln, in welche die beiden Platin oder Palladium oder Goldelektroden eintauchen, einem Verbindungsstück und den Zuleitungsklemmen. Sehr einfach und leicht zu handhaben ist das Gaselement von Hamburger (Fig. 28b); es gestattet aber nicht die kontinuierliche Durchleitung von Gas während der ganzen Zeit der Messung, was zumal manches Mal deshalb erforderlich wäre, weil der Verschuß des Gasraumes mit Gummistopfen keine genügende Sicherheit gewährt; immerhin hat Hamburger selbst mit seinem Apparat gute Resultate erzielt. Der Apparat von Höber (Fig. 28a) besteht vollkommen aus Glas ohne Gummistopfenverschluß und besitzt Zu- und Ableitungsöffnung zur kontinuierlichen Gasdurchströmung. Die Platinplatten sind durch ihre Zuführung in herausnehmbare, eingeschliffene Glasstopfen eingeschmolzen. Während dieser Teil leicht zugänglich ist, ist das verbindende Mittelstück weniger leicht zugänglich und daher die Reinhaltung des Apparates, sowie auch die Füllung etwas umständlich. Bei den Gasketten von Hamburger und Höber wird zur Verlangsamung der Diffusion das Verbindungsstück mit Baumwolle gefüllt. Diese Baumwolle ist vorher einer sorgfältigen Reinigung zu unterziehen. Der Apparat von Asher (Fig. 28d) ist für die kontinuierliche Durchleitung von Gas eingerichtet. Das Verbindungsgefäß ist nach dem Prinzip der Spritzflasche konstruiert; durch Druck tritt die Verbindungsflüssigkeit zu den beiden Spitzen aus, welche die Verbindung mit den beiden Gaselektroden herstellen; an das Druckrohr wird ein Schlauch angebracht, der im Moment des Austretens der Flüssigkeit durch eine Schlauchklemme geschlossen wird. An der Kontaktstelle der Spitze des Verbindungsgefäßes mit der Gaselektrode befindet sich eine besondere Einrichtung zur Erschwerung der Diffusion. Das Endstück der Gaselektrode ist mit einem durchbohrten Kautschukstopfen verschlossen; in diesem Kautschukstopfen steckt unten ein Meerschamkonus, der ausgehöhlt ist. Die

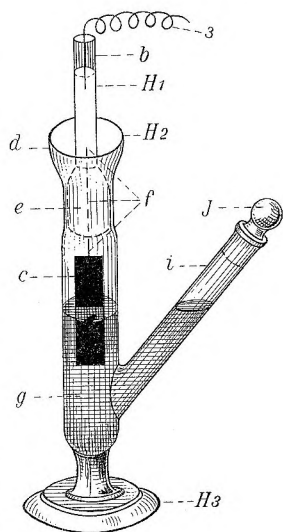


Fig. 28e.

Aushöhlung wird mit derselben Flüssigkeit gefüllt, wie in die Gaselektrode selbst kommt. Das zugespitzte Endrohr des Verbindungsgefäßes wird in den oberen Teil der Bohrung des Stopfens gesteckt; auf diese Weise ist eine kontinuierliche Verbindung hergestellt, das ganze System aber geschlossen, so daß es in den Thermostaten versenkt werden kann. Die einzelnen Teile sind leicht auseinander zu nehmen und zu reinigen. Die Elektrode von Farkas (Fig. 28e) (mit Modifikation von Szili) hat einen Fassungsraum von 1—3 cm³. Die obere Öffnung des kleinen Zylinders (g) wird durch einen gut eingeschliffenen Stöpsel (e) luftdicht verschlossen; die Dichtung sichert die kreisförmige Rinne (d), welche mit Quecksilber (H₂) gefüllt wird. In den Glasstöpsel (e) ist der Platindrabt (f) eingeschmolzen, der die platinierter Platinplatte (c) trägt und mit seinem oberen Ende in die röhrenförmige Fortsetzung (b) des Glasstöpsels reicht, wo Quecksilber (H₁) die Verbindung mit den Leitungsdrähten (a) vermittelt. Der Seitenteil J stellt mit Hilfe eines Kapillarhebers die Verbindung mit der anderen Elektrode her. Zur Ladung wird das Gefäß mit Flüssigkeit überfüllt, ohne Luftblase geschlossen und dann von i aus Gas eingeleitet. Der Seitenast i ist möglichst tief angesetzt, damit nicht zu viel Flüssigkeit von dem Wasserstoff verdrängt wird und Luft nachdringt. Die Gaskette von Foà (Fig. 28c) wird gesondert besprochen.

Die Elektrode der Konzentrationskette und deren Behandlung. Außer zu besonderen Zwecken sind die Elektroden aus Platin. Dieselben werden gut platinierter nach den Vorschriften wie oben bei der Messung der Leitfähigkeit angegeben wurde. Sodann werden dieselben mit Gas beladen. Der bei Messungen von H Konzentrationen benötigte Wasserstoff wird im Kippischen Apparat entwickelt oder aus einer Bombe entnommen und zur Reinigung durch 20% KMnO₄ Lösung und gesättigte wässrige Sublimatlösung geleitet. Den zur Messung der OH Konzentration benötigten Sauerstoff entnimmt man einer Bombe, wie z. B. die Firma Elkan in Berlin liefert. Je nach der Form der angewandten Gaselektrode ist die Zuleitungsart des Gases einzurichten. Während der Sättigung mit Gas ist die Gaselektrode mit destilliertem Wasser gefüllt. Bei denjenigen Elektroden, welche nicht einen kontinuierlichen Gasstrom während des ganzen Versuchs einzuleiten gestatten, tut man gut, etwa drei Stunden lang mit Gas zu laden. Es kommt nun darauf an, daß beide Elektroden nach ihrer Ladung und bei Eintauchen in 0.01 NaCl oder HCl Lösung keine Potentialdifferenz zeigen. Dieser Zustand ist, wenn er mit sehr empfindlichen Meßinstrumenten geprüft wird, durchaus nicht leicht zu erzielen; doch dürfen Potentialunterschiede von 2—3 Millivolt deshalb übersehen werden, weil diese innerhalb der Fehlergrenze der Methode bleiben. Die Ungleichheit kann herrühren von einer ungleichen Platinierung oder einer ungleichen Ladung mit Gas. Der letztere Fehler kann dadurch beseitigt werden, daß die stärker geladene Elektrode mit der Flamme gelinde erhitzt wird. Gelingt es auf diese Weise bei mehrfacher Wiederholung nicht den Potentialunterschied weg zu bringen, so ist es geraten, die Platinelektrode sorgfältig zu reinigen, von frischem zu platinieren und mit Gas zu beladen. Für das Laden mit H und O₂ sind durchaus verschiedene Elektroden zu benutzen; eine mit O₂ beladene Elektrode ist unbrauchbar, um mit H geladen zu werden. Außer Platin sind noch andere Elektrodematerialien im Gebrauch, nämlich Palladium, Gold und neuerdings

auch Iridium. Palladium hat vor Platin den Vorzug, daß die mit Palladium schwarz bedeckten Elektroden mehr H absorbieren und die Ladung länger retinieren. Palladiumelektroden bedürfen, wenn sie einmal fertiggestellt sind, keiner Aufladung mit H während des Versuchs, sie sind daher bei solchen Messungen vorzuziehen, wo längere Durchleitung von H die zu untersuchende Flüssigkeit in ihrer Zusammensetzung ändert oder wo etwa lebende Zellen (z. B. Protisten) in der Untersuchungsflüssigkeit sich befinden, welche durch H geschädigt werden. Man palladiniert die Elektroden durch Elektrolyse in einer 3% Lösung von Palladiumnitrat, der ein Tropfen verdünnter Salpetersäure zugesetzt wird. Nach dem Palladinieren sind die Elektroden gründlich in reinem Wasser auszukochen. Goldelektroden werden angewandt, weil die Diffusion von H in das Metall, wodurch die elektromotorische Kraft der betreffenden Elektrode sich ändert, bei Gold am geringsten ist. Die Elektrode von Foà ist eine aus Gold. Die Goldelektrode wird mit Palladium schwarz bedeckt. Die Ladung der Elektroden kann zunächst in besonderen Röhren geschehen; sie kommen aber dann bei der Überführung in das Gaselement mit Luft in Berührung. Deshalb muß nach Füllung des Gaselementes mit der zu untersuchenden Flüssigkeit von neuem jede Elektrode mit Gas beladen werden. Der Zutritt von Luft um die Elektrode herum muß während der ganzen Messung verhütet werden. Nach des Verfassers Erfahrung gibt die kontinuierliche Durchleitung von H die konstanteren Resultate. Die Füllung des Gaselementes während des Versuches soll derart sein, daß nur die halbe Elektrode von Flüssigkeit bedeckt ist, die andere Hälfte aber von dem Gasraum umgeben sei.

Gaskette von Foà (Fig. 28e): Da die Gaskette von Foà in einigen wesentlichen Punkten von den anderen abweicht, sei sie besonders beschrieben. Das Element wird zusammengesetzt aus einer Wasserstoffelektrode, welche in die zu untersuchende Flüssigkeit taucht, und einer Kalomelnormalelektrode. Dasselbe liefert eine experimentell bestimmbare elektromotorische Kraft E, welche sich zusammensetzt aus dem Potential π der Wasserstoffelektrode gegen die zu untersuchende Lösung, dem Kontaktpotential zwischen der zu untersuchenden Flüssigkeit und der Flüssigkeit der Normalelektrode π_1 und dem Potential der Flüssigkeit der Normalelektrode gegenüber der Kalomelnormalelektrode π_2 ; wenn π_2 bekannt ist und π_1 einen zu vernachlässigenden Wert enthält, kann π berechnet werden. Z. B. ergibt sich bei der Kombination

Wasserstoff- elektrode	Blut	NCl n 8	Hg +
π		π_1	π_2

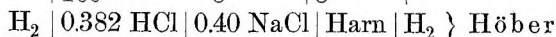
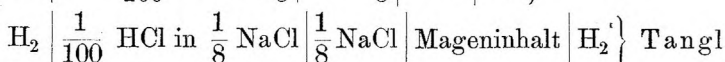
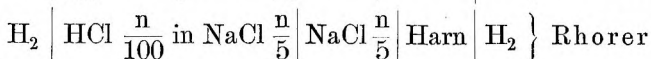
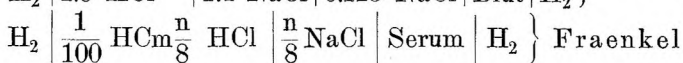
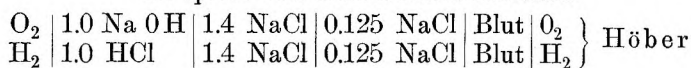
wo $\pi_2 = 0,606$ Volt, π_1 zu vernachlässigen ist, $\pi = E - 0,606$. Nun ist nach der Formel von Nernst $\pi = 0,0575 \log \frac{P}{C_H}$, wo C_H die H Ionenkonzentration und P die Lösungstension des Gases an der Elektrode ist. Der Wert dieser Konstante, der ermittelt wird durch Anwendung einer bekannten HCl Konzentration z. B. $\frac{n}{10}$ HCl, beträgt $\log P = -4,7385$. Mit Hilfe

dieser Zahl und dem experimentell gefundenen Wert von π läßt sich aus obiger Formel die Konzentration der H Ionen ermitteln. Die in der Formel vorkommende Lösungstension P ist abhängig u. a. vom Druck des die Elektrode umgebenden Gases; derselbe muß also konstant erhalten werden. Diesem Umstande trägt die besondere Form von Foas Gaskette Rechnung.

In das U förmige Gefäß b, g, a, dessen Kapazität bis auf einen ccm gemindert werden kann, taucht bei a die Kalomelnormalelektrode, bei b taucht in die zu untersuchende Flüssigkeit eine mit Palladium schwarz bedeckte Goldelektrode. Der Hahn C dient zur Einleitung des Wasserstoffs, welcher durch h in das im Wasser eingetauchte Reagensglas K gelangt und von da durch i in dem gleichfalls mit Wasser gefüllten Gefäß m entweicht. Wenn das System ganz mit Wasser gefüllt ist, wird der Hahn C geschlossen und das Reagensglas K so eingestellt, daß der Wasserstoff im Apparat unter Atmosphärendruck steht. Der Hahn g dient zur Reinigung des Apparates.

4. Die bei den verschiedenen Körperflüssigkeiten anzuwendenden Zwischenflüssigkeiten. Bei der praktischen Anwendung der Konzentrationsketten in der Physiologie ist die richtige Wahl der Zwischenflüssigkeit eine der wesentlichsten Schwierigkeiten. Handelt es sich um verdünnte wäßrige Lösungen einfacher Substanzen, so ist nach den Untersuchungen von Bjerrum die Einschaltung einer konzentrierten Chloralkaliumlösung ein zuverlässiges Mittel, um das Diffusionspotential auszuschalten. Ein anderes Mittel besteht darin, daß man zu beiden Lösungen ein indifferentes Salz im Überschuß zusetzt, so daß dessen Konzentration in beiden Lösungen gleich ist. Bei physiologischen Messungen ist NaCl der anzuwendende indifferente Elektrolyt. Wenn die zu untersuchende Körperflüssigkeit selbst NaCl enthält, wird nur der Säure von bekannter H Konzentration soviel NaCl zugesetzt, wie in der betreffenden Körperflüssigkeit vorkommt. Eine andere — speziell für den Harn bestimmte Methode — hat Höber eingeführt, indem er zwischen die Harn- und Salzsäure bekannte Konzentration eine Kochsalzlösung einschiebt, welche die gleiche elektrische Leitfähigkeit wie der zu untersuchende Harn hat. Es ist demnach vorher die Leitfähigkeit des Harns zu ermitteln. Die Salzsäurelösung wird in bezug auf die Cl Ionen mit der NaCl Lösung gleich konzentriert gemacht. („isohydrisch“). Das Kontaktpotential zwischen dieser HCl Lösung und der damit isohydrischen NaCl Lösung wird berechnet.

Beispiele von Konzentrationsketten.



Spez. Leitfähigkeit des Harns bei $t = 25^\circ$: $\lambda = 38,73 \cdot 10^{-3}$

„ „ „ „ von 0.4 NaCl bei $t = 25^\circ$: $\lambda = 42,86 \cdot 10^{-3}$

Foà wendet für Blut $\frac{n}{8}$ NaCl Lösung an, für Harn $\frac{n}{5}$ NaCl Lösung, für Magensaft $\frac{n}{10}$ NaCl Lösung; bei der Galle läßt sich das Kontaktpotential nicht ganz vermeiden; Foà interpoliert die Werte, welche erhalten werden bei $\frac{n}{8}$ und $\frac{n}{5}$ NaCl Lösung als Zwischenflüssigkeit.

5. Zeitdauer der Messung. Die elektromotorische Kraft der Konzentrationskette besitzt nicht sofort einen konstanten Wert, sondern erreicht ihn erst allmählich. Meistens ist derselbe in zirka 2 Stunden erreicht und behält den konstanten Wert einige Stunden lang bei. Wenn die Werte nicht eine längere Zeitlang konstant bleiben, so liegt das entweder daran, daß die Ladung der Elektroden mit Gas nicht konstant bleibt, oder daß infolge fehlerhafter Anordnung an den Berührungsflächen eine zu rasche Diffusion stattfindet.

6. Fehlerquellen der Methode. Nach Böttiger lassen sich Messungen an Wasserstoffgaselektroden mit einer Genauigkeit von 0,003 Volt machen. Hieraus resultiert, wie Dreser berechnet hat, bei der Methode, die Konzentration der Wasserstoffionen durch Messung der elektromotorischen Kraft zu bestimmen, eine eventuelle Differenz von rund 20 Prozent des zu ermittelnden Wertes, weshalb die Methode nur zu annähernden Bestimmungen geeignet ist. Eine spezielle Fehlerquelle ist die Veränderung, welche die zu untersuchende Flüssigkeit dadurch erfährt, daß der durchgeleitete Wasserstoff die in der Flüssigkeit enthaltenen Gase entfernt. Beispielsweise ist die Reaktion des Blutes zum Teil von seinem CO_2 -Gehalt abhängig; die CO_2 wird aber durch die Wasserstoffdurchleitung entfernt. Höber vermindert diesen Fehler dadurch, daß er die Gaselektroden mit Gemischen von Wasserstoff und CO_2 umspült. Anwendung von Elektroden, welche keine kontinuierliche Durchleitung von H verlangen (solche sind oben beschrieben), sind ein weiteres, bei Untersuchungen des Blutes empfehlenswertes Mittel.

7. Anwendung der Konzentrationsketten zur Untersuchung der Bindung von Säure oder Alkali: Um festzustellen, ob z. B. durch Eiweiß Säure oder Alkali gebunden wird, kann man nach Bugarszky und Liebermann Konzentrationsketten anwenden, in denen zwei Säuren oder Laugen von bekanntem Konzentrationsunterschied eine meßbare elektromotorische Kraft erzeugen. Aus der Abnahme der elektromotorischen Kraft nach Zusatz von Eiweiß auf der einen Seite, kann man die Verminderung der H, beziehentlich OH Konzentration durch Eiweiß ermitteln. Dieselbe Methode läßt sich auch benutzen, um bei anderen Stoffen, sowie auch bei lebenden Zellen und Geweben den Verbrauch oder die Abgabe von H und OH Ionen zu bestimmen. (Für diese Art der Anwendung siehe auch Methoden der Elektrophysiologie). Bei der Benutzung von Konzentrationsketten bei den Lebensäußerungen von Organismen z. B. Protisten ist darauf zu achten, daß die lange Durchleitung von H dieselben nicht schädige. Hier eignen sich besonders Palladiumelektroden.

2. Methode der Indikatoren.

Ein einfaches Verfahren zur quantitativen Messung des Wasserstoffionengehaltes einer Lösung auf kolorimetrischem Wege ist von Friedenthal

angegeben worden. Es beruht auf den Farbenänderungen, welche die als Indikatoren in der Acidimetrie und Alkalimetrie Verwendung findenden Farbstoffe in Lösungen verschiedener H Ionenkonzentrationen aufweisen. Friedenthal (nach ihm Salessky und Salm) hat eine lückenlose Serie von genau bekannten Reaktionsstufen hergestellt und die Färbung solcher Lösungen von bekannten H Ionengehalt nach Zusatz genau definierter Indikatormengen kolorimetrisch verglichen mit der Färbung der zu prüfenden Flüssigkeit. Eine hier folgende von Salm aufgestellte Tabelle enthält eine für Reaktionsmessungen ausreichende Stufenleiter von Indikatoren mit 15 Reaktionsstufen. Die betreffende Wasserstoffionenkonzentration wird durch einen deutlichen Farbumschlag angezeigt.

Die Indikatorlösungen müssen aus besonders reinen von Dr. Grübler & Co., Leipzig, zu beziehenden Präparaten hergestellt werden (nähere Angaben über die Bereitung bei Glaser, Indikatoren der Acidimetrie und Alkalimetrie. Wiesbaden 1901) und werden in braunen Tropfflaschen aufbewahrt. Die Indikatorlösung soll möglichst $\frac{1}{100}$ Mol Indikator im Liter

enthalten. Die Färbungen werden vorgenommen in Gläschen mit planem Boden von gleichem Inhalt (10 cm^3) und das Licht von einer weißen Unterlage (Milchglasplatte) durch die Lösungen geworfen. Von den Indikatorlösungen werden genau 0.1 cm^3 zu den 10 cm^3 hinzugefügt.

Beispiel (Salm): Bei einer beliebigen Flüssigkeit, deren Wasserstoffionengehalt festgestellt werden soll, wird gefunden, daß der Zusatz eines Tropfens Alkanninlösung in 10 cm^3 der Flüssigkeit Rosafärbung hervorruft. Hierdurch weiß man, daß die Konzentration an Wasserstoffionen nur liegen kann zwischen $2 \cdot 10^{-8}$ norm. H⁺ und 1.10^{-9} norm. H⁺. Man versetzt jetzt eine zweite Probe der Lösung mit einem Indikator, der bei 1.10^{-8} norm. H⁺ einen deutlichen Farbumschlag zeigt, also etwa Neutralrot oder Cyanin; sodann prüft man auf $C_H = 1.10^{-7}$ norm. H⁺ z. B. mit Rosolsäure; ergibt sich Gelbfärbung, so ist das Reaktionsgebiet wieder enger eingegrenzt, nämlich zwischen $2 \cdot 10^{-8}$ norm. H⁺ und 1.10^{-6} norm. H⁺. In der geschilderten Weise wird mit dem Zusatz von Indikatoren systematisch fortgefahren, bis die H⁺ Konzentration der Lösung ermittelt ist.

Nach Friedenthal ist es einfacher überall, auch bei alkalischen Medien, nur die H⁺ Konzentration zu berücksichtigen, wie man in der absoluten Temperaturskala nur von Wärme spricht. Die stärkste H⁺ Lösung, die bekannt ist, ist eine 5,873 n Salpetersäure vom spezifischen Gewicht 1,1946. Der schwächste H⁺ Gehalt einer wässrigen Lösung findet sich in einer Kalilauge, die 6,744 n ist, vom spezifischen Gewicht 1,286.

3. Methode der Messung der Reaktionsgeschwindigkeit.

Eine Methode, um die Konzentration von H und OH Ionen zu messen, gründet sich darauf, daß die Geschwindigkeit, mit welcher gewisse Reaktionen ablaufen von der Konzentration dieser Ionen abhängt. Es ist dies eine spezielle Anwendung einer viel allgemeineren Methode, indem jeder Reaktionsverlauf, nach dem Gesetz von Guldberg und Waage, abhängt von der räumlichen Konzentration, d. h. von der Anzahl g Molekeln mit denen die Stoffe im Liter vorkommen. Es werden unterschieden monomolekulare

Tabelle von Salm zu Reaktionsmessungen.

Indikator	A	B	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	2-n.H. 1-n.H.	1-n.H. n.H.	1.10-1 n.H.	1.10-2 n.H.	1.10-3 n.H.	1.10-4 n.H.	1.10-5 n.H.	1.10-6 n.H.	1.10-7 n.H.	1.10-8 n.H.	1.10-9 n.H.	1.10-10 n.H.	1.10-11 n.H.	1.10-12 n.H.	1.10-13 n.H.	1.10-14 n.H.	5.10-15 n.H.
Mauvein	gelb	grün	grün-blau	blau	violett	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	violett-rot	gelb-rot
Kongorot	blau	—	—	—	blau	violett	scharlach	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Alizarin-sulfosaures Natrium	gelb-grün	—	—	—	—	—	braun	rot	—	—	—	—	lila	violett	—	—	—
Rosolsäure	gelb	—	—	—	hell-bräunlich	—	—	hell-bräunlich	rosa	rot	—	—	—	—	—	rot, lang-sam heller	rot, schnell farblos
Phenolphthalein	farblos	—	—	—	—	—	—	—	—	farblos	rosa	rot	—	—	—	rot, schnell farblos	rot einfallend gleich darauf farblos
a-Naphtol-benzoin	bräunlich-gelb	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	grün	grün-blau	—	—	—	—
Tropäolin O	gelb	—	—	—	—	—	grün-gelb	—	—	—	—	—	grün-gelb	orange	rot-orange	—	—
Trinitrobenzol	farblos	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	farblos	orange	rot-orange	fast farblos
Benzopurpurin	blau	blau-violett	violett	—	rot-violett	rosa	gelb, Stich rot	—	—	—	—	—	—	—	gelb Stich rot	rosa	—
Safranin	blau	lila	rosen-rot	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	rosen-rot	violett

Reaktionen, wo die Reaktion an einem einfachen Molekül stattfindet, und die bimolekularen Reaktionen, an zwei sich umsetzenden Molekülen. (Reaktionen an mehr als zwei Molekülen kommen für die praktische Anwendung vorläufig nicht in Betracht). Die Gleichungen der monomolekularen Reaktion lauten

$-\frac{dC}{dt} = kC$ (1) woraus durch Integration folgt $k = \frac{1}{t_2 - t_1} \lg \frac{C_1}{C_2}$ (2), wo C_1 die Konzentration des Stoffes zur Zeit t_1 , C_2 dieselbe zur Zeit t_2 ist, $\frac{dC}{dt}$ die Reaktionsgeschwindigkeit d. h. die Abnahme, welche die Konzentration in dem Zeitmoment erfährt, und k die Geschwindigkeit oder Reaktionskonstante bedeutet. Letztere kann auch als die Reaktionsgeschwindigkeit bezeichnet werden für den Fall, daß der reagierende Stoff die Konzentration eins besitzt.

Die Gleichungen für bimolekulare Reaktion lauten $-\frac{dC_1}{dt} = k_1 C_1 C_2$ (3)

$-\frac{dC_2}{dt} = k_1 C_1 C_2$ (4); wenn die beiden reagierenden Stoffe in äquivalenten

Mengen vorhanden sind, also $C_1 = C_2$ ist, gilt $-\frac{dC}{dt} = kC^2$ (5) woraus

durch Integration folgt $k = \frac{1}{t_2 - t_1} \left(\frac{1}{C_2} - \frac{1}{C_1} \right) = \frac{1}{t_2 - t_1} \cdot \frac{C_1 - C_2}{C_1 C_2}$ (6).

Experimentell wird jeweilig die Geschwindigkeitskonstante dadurch gefunden, daß zu bestimmten Zeiten t_1 , t_2 usw. die entsprechende Konzentration der in Reaktion befindlichen Stoffe ermittelt wird. Diese Konzentrationen werden entweder vermitteltst geeigneter physikalischer oder analytischer Methoden festgestellt. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist nun nicht allein abhängig von den in obigen Gleichungen genannten Variablen, sondern im besonderen von der Temperatur, welche im Sinne der Beschleunigung wirkt. Daher gilt das experimentell gefundene k nur für eine bestimmte, während der Versuchsdauer streng konstant zu haltende Temperatur. Die obigen Gleichungen werden aus praktischen Gründen folgendermaßen umgestaltet. Es sei A die Konzentration der Zersetzung erleidenden Substanz in Anfang des Versuchs $t = 0$, x_1 sei die zur Zeit t_1 umgewandelte Menge, x_2 diejenige zur Zeit t_2 , dann wird Gleichung 5 und 6 zu

$$k = \frac{1}{t_2 - t_1} \cdot \lg \frac{A - x_1}{A - x_2} \quad (7) \quad k = \frac{1}{t_2 - t_1} \cdot \left(\frac{1}{A - x_2} - \frac{1}{A - x_1} \right) \quad (8)$$

Allgemeine Methodik: Die Gefäße, in denen die Reaktionsversuche angestellt werden, müssen vor dem Versuche nach der oben beschriebenen Methode (Seite 113) ausgedämpft werden. Dieselben kommen in einen Thermostaten, welcher durch Regulator und Rührwerk auf konstanter Temperatur erhalten wird. Die Flaschen müssen bis nahe an ihre Mündung in den Thermostaten versenkt werden und bedürfen daher der Beschwerung durch Bleiplatten oder ähnlicher Vorrichtungen. Geeignete Formen (nach Ostwald) zeigen nachstehende Figuren 29a und b. (Siehe nächste Seite.)

Die Substanzen, deren Aufeinanderwirken geprüft werden sollen, werden im Thermostaten auf die Versuchstemperatur vorgewärmt und dann im Versuchsgefäß vereinigt. Eine genau bestimmte Zeit nach der Vermengung

entnimmt man eine erste Probe, welche zur Bestimmung des Wertes x dient. Die analytischen Prozeduren (z. B. Titrationen oder Bestimmung der Polarisation) dauern eine gewisse Zeit, die in Rechnung zu setzen ist; man nimmt den Mittelwert zwischen dem Anfang und der Beendigung der Analyse als Zeit t_1 . Sowie die Messung beginnt, muß die zu messende Reaktion unterbrochen werden. Bei langsam verlaufenden Reaktionen genügt die Herabsetzung der Temperatur. Bei rasch verlaufenden Reaktionen müssen dieselben durch andere Verfahren unterbrochen werden, wobei es auf den speziellen Fall ankommt. Beispielsweise wird man die Wirkung einer Säure durch Zusatz einer abgemessenen Quantität überschüssiger Lauge, welche zurücktitriert wird, aufheben können. Die den Zeiten t_2 entsprechenden Mengen x_2 werden auf analoge Weise bestimmt. Außer den Werten x_1 und x_2 wird man meist noch eine weitere Reihe von Werten x_3, x_4, x_5 , usw. zu den Zeiten t_3, t_4, t_5 , bestimmen. Die Formel (7) kann in gewissen Fällen praktisch folgendermaßen umgestaltet werden: Es sei t_1 der Nullpunkt des

Versuchs, die umgewandelte Menge x_1 also $= 0$, so wird $K = \frac{1}{t_2} \ln \frac{A}{A - x_2}$ (9) sein. Hierbei wird man die Reaktion bis zu Ende gehen lassen (vor-

ausgesetzt, daß die Reaktion in einer nicht zu langen Zeit bis zu Ende verläuft), und aus der vollständig umgesetzten Menge erfährt man die am Anfang des Versuchs vorhandene. In jedem Einzelfalle muß bekannt sein, ob die Reaktion eine monomolekulare oder bimolekulare ist; z. B. ist die Inversion von Glykogen durch Säuren eine monomolekulare Reaktion, weil die Säure selbst sich nicht an der Reaktion beteiligt.

Physiologische Anwendung: Bestimmung der H und OH Konzentrationen. Bei weitem die wichtigste Anwendung der Messung der Reaktionsgeschwindigkeit in der Physiologie ist diejenige, wo sie dazu dient die Konzentration von wirksamen Substanzen, insbesondere von H und OH Ionen Konzentrationen kennen zu lernen.¹⁾ Der Konzentration der

Wasserstoffionen proportional sind z. B. die Inversion von Rohrzucker durch Säuren zu Dextrose und Fruktose, die Geschwindigkeit der Esterkatalyse, z. B. die Spaltung von Methylazetat in Essigsäure und Methylalkohol, die Überführung von Azetamid in Ammoniumacetat, der Zerfall des Diazoessigesters in Glykolsäureester und Stickstoff; der Konzentration der Hydroxylionen einer Lösung sind proportional die Verseifungsgeschwindigkeit von Ester, die Beschleunigung der Umwandlung von Diazetonalkohol in Azeton, die Umwandlung von Hyoszyamin in Atropin. Bei der physiologischen Anwendung handelt es sich meist darum, nebeneinander die Geschwindigkeitskonstante einer Lösung bekannter H bez. OH Konzentration mit derjenigen der zu untersuchenden Flüssigkeit zu bestimmen, um aus dem Verhältnis der Geschwindigkeitskonstanten den Wirkungswert der untersuchten Flüssigkeit zu finden.

1) Die Anwendung der Methode auf die Fermente ist prinzipiell die gleiche; sie wird an dieser Stelle des Handbuchs nicht erörtert.

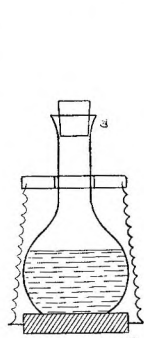


Fig. 29a.

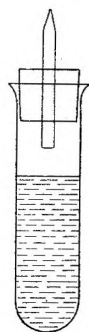


Fig. 29b.

Bestimmung der H Ionen mit Hilfe der Zuckerinversion. Durch Säuren, beziehentlich freie H Ionen zerfällt rechtsdrehender Rohrzucker in rechtsdrehende Glukose und linksdrehende Fruktose. Aus der Änderung des optischen Drehungsvermögens kann die Menge des in irgend einer Zeit umgewandelten Zuckers bestimmt werden. Benötigt wird ein Polarisationsapparat, der mit einem temperierbaren Wassermantel umgeben sein muß, da die Drehung von der Temperatur abhängig ist. Voraussetzung für die Anwendbarkeit dieser Methode ist, daß die zu untersuchende Flüssigkeit ganz klar ist. Die Gleichung, welche der Berechnung zugrunde gelegt wird, ist Gleichung (9), da die Inversion des Rohrzuckers $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_6H_{12}O_6$ als monomolekulare Reaktion angesehen werden kann, insofern die Wassermenge als eine sehr große als konstant angesehen werden kann. Die ursprüngliche Rohrzuckermenge A wird gefunden aus der Drehung zu Anfang des Versuchs zur Zeit t_0 und aus der Drehung, wenn die Inversion bis zu Ende abgelaufen ist. Rohrzucker ist stark rechtsdrehend, im Gemisch des entstandenen Invertzuckers überwiegt die linksdrehende Fruktose. Der Wert, der bei der ersten Ablesung gefunden wurde, vermehrt um den Wert der bei vollendeter Inversion gefunden wird, ist der ganze Winkel, welcher bei der Zuckerinversion durchlaufen wird und somit der Konzentration A des Zuckers proportional. Die Werte x_2 , x_3 , usw. werden gefunden durch Subtraktion der bei t_2 , t_3 , usw., gefundenen Winkelwerte von dem bei t_0 gefundenen Drehungswinkel. Wenn die Beendigung der Inversion sehr lange Zeit dauert, wie z. B. bei organischen Säuren, wird die schließlich zu erwartende Linksdrehung nach einer Formel von Herzfeld berechnet. Dieser zur Folge führt jeder Grad Rechtsdrehung der ursprünglichen Zuckerlösung bei t^0 nach völliger Inversion $(0,4266 - 0,005t)$ Grad Linksdrehung herbei.

In den Thermostaten kommt 1. eine Rohrzuckerlösung + eine bestimmte Menge Säure, z. B. Salzsäure genau bekannter Konzentration, 2. die gleiche Rohrzuckerlösung + einer gleichen Menge der zu untersuchenden Flüssigkeit, in beiden Fällen sei das Flüssigkeitsvolum gleich groß. Diese Methode ist in der Physiologie bis jetzt angewendet worden zur Bestimmung der freien Säure des Magensaftes (F. A. Hoffmann) und zur Bestimmung der Bindung von Salzsäure an Albumosen und Peptone (Cohnheim). Bei der Bestimmung der freien Säure des Magensaftes werden nach Hoffmann noch je ein Gefäß mit reinem Magensaft und eines mit Zuckerlösung, Magensaft und 10% Lösung von Natriumazetat gefüllt. Ersteres dient dazu, um etwaige rechtsdrehende Körper, die im Magensaft vorhanden sind, zu erkennen, das letztere dazu, um das Vorhandensein eines wie Salzsäure, die durch Natriumazetatzusatz neutralisiert wird, auf Rohrzucker wirkenden Fermentes auszuschließen. Zur Erkennung des H Gehaltes der übrigen tierischen Säfte ist die Inversionsmethode nicht anwendbar, weil der H Gehalt zu gering ist. Dies gilt z. B. auch vom Harn. Hingegen ist die Methode anwendbar, wo man die Abhängigkeit eines physiologisch vorkommenden Vorganges von der H Konzentration ermitteln will, z. B. die Abhängigkeit der fermentativen Eiweißspaltung von Säuregrad.

Bestimmung der freien Säure mit der Methylazetatmethode. (F. A. Hoffmann). Wäßrige Lösungen von Methylazetat zerfallen, sich selbst

überlassen, sehr langsam in Methylalkohol und Essigsäure. Setzt man aber eine andere Säure hinzu, so wird dieser Vorgang beschleunigt. Die Berechnung erfolgt nach Formel (9). Das Verfahren zur Bestimmung der Geschwindigkeitskonstante ist in der allgemeinen Methodik oben beschrieben worden. Zur Titrierung der entstehenden Essigsäure gebraucht man $\frac{1}{10}$ normale Lösung von Barythydrat. Dieselbe stellt man nach Ostwald folgendermaßen dar: „Man löst in der Siedhitze 20 bis 30 g Barytkristalle in etwa 250 cm³ Wasser und läßt die trübe Flüssigkeit erkalten, wobei man während des Erkaltes die Kochfläche mit einem Stopfen schließt, der mit einem Natronkalkrohr versehen ist. Beim Erkalten kristallisiert das überschüssige Hydrat aus und reißt das Karbonat mit, so daß man eine klare, gesättigte Lösung erhält, die bei Zimmertemperatur 2.4 bis 2.5 äquivalent normal ist. Man spült dann die Vorratsflasche und Bürette mit kohlensäurefreier Luft aus, füllt etwa $\frac{3}{4}$ Liter kohlensäurefreies Wasser hinein, saugt nochmals kohlensäurefreie Luft durch und hebert oder saugt etwa 200 bis 250 cm³ der gesättigten Lösung in die Flasche. Durch kräftiges wiederholtes Schütteln, mehrfaches Füllen und Entleeren der Bürette wird der Inhalt vermischt. Darauf macht man eine genaue Gehaltsbestimmung des Barytwassers.“ Der Titer der zugesetzten Säure muß bekannt sein. In ein Fläschchen kommt eine bestimmte Menge Methylazetat und Salzsäure von bekanntem Titer, in ein zweites Fläschchen auf gleiches Volumen wie im ersten dieselbe Menge Methylazetat und die zu untersuchende Flüssigkeit. Die zu untersuchende Flüssigkeit muß vorher auch titriert werden. Man entnimmt nach einer bestimmten Zeit aus jedem Gefäß die gleiche Menge und titriert die aus Methylazetat entstandene Essigsäure. Hierdurch erfährt man die Geschwindigkeitskonstanten K_1 der bekannten Säure von der Konzentration C_1 und die Geschwindigkeitskonstante K_2 der freien Säure unbekannter Konzentration C_2 . Hieraus ergibt sich $C_2 = C_1 \frac{K_2}{K_1}$.

Der Wert A in Gleichung (9), die Menge Essigsäure, welche überhaupt aus der verwandten Menge Methylazetat entstehen kann, wird gefunden, indem ein Rest der Flüssigkeit mindestens 2 Tage im Thermostat stehen bleibt; A ist dann der konstante Schlußtiter nach Erreichung des Endzustandes. Der Vorzug der Methylazetatmethode ist, daß sie in einfachen Titrierungen besteht und selbst bei trüben Flüssigkeiten anwendbar ist. Sowohl bei der Zuckerinversion wie auch bei der Methylazetatmethode muß darauf Rücksicht genommen werden, ob nicht Stoffe in der Flüssigkeit vorhanden sind, welche die Reaktionsgeschwindigkeit beeinflussen.

Methoden zur Bestimmung des chemischen Gleichgewichts. Das chemische Gleichgewicht ist der spezielle Fall, daß die beiden Reaktionsgeschwindigkeiten eines chemischen Umsatzes gleich werden. Die chemischen Gleichgewichte spielen in der Physiologie eine große Rolle. Da die Methodik aber eine rein chemische ist, gelangt sie, dem Plane dieses Werkes entsprechend, nicht zur Darstellung. (Beispiele physiologischer Art z. B. die Untersuchung des Gleichgewichtes zwischen Oxyhämoglobin \rightleftharpoons Hämoglobin — Sauerstoff (Hüfner) und zwischen Metallalbuminaten \rightleftharpoons Eiweißkörpern und Metallen (Galeotti).

Untersuchung des Salzsäure-Bindungsvermögen der Albumosen und Peptone nach dem Inversionsverfahren (Cohnheim).

Cohnheim hat die oben beschriebene Hoffmannsche Methode zur Erkennung der Magensalzsäure mit Hilfe der Zuckerinversion ausgearbeitet zur Ermittlung des Salzsäurebindungsvermögens von Albumosen und Peptonen. Folgende Berechnung liegt dieser Methode zugrunde. Stellt man zwei Versuche mit gleicher Zuckermenge und gleicher Zeitdauer an, den einen mit bekannter Salzsäuremenge d , den anderen mit unbekannter z , so gilt $\frac{C}{C'} = \frac{\log A - \log (A - x)}{\log A - \log (A - x')}$. (A und x haben die oben angegebene Bedeutung, C ist eine von der Natur und Menge der Säure abhängige Konstante.)

Da die wirkende Säure in beiden Fällen Salzsäure ist, so hängt die in C ausgedrückte Wirkung nur von der Menge Salzsäure ab und es berechnet sich $z = \frac{C' d}{C}$

Es ist nun zu einer Albumoselösung von bekanntem Gehalt (N) Salzsäure von bekanntem Gehalt (M) im Überschusse zuzusetzen und dann vermittels der oben beschriebenen Hoffmannschen Methode, mit Hilfe eines Polarisationsapparates, die freie, nicht gebundene Salzsäure (z) zu bestimmen. Dann ist die Differenz zwischen der ursprünglich vorhandenen und der als frei gefundenen Salzsäure diejenige Salzsäuremenge, die von der Albumose gebunden wurde. Aus der Gleichung $\frac{N}{M - z} = \frac{100}{x}$ berechnet sich x als die Menge Salzsäure, die von der Albumose gebunden werden kann, ausgedrückt in Prozenten ihres Gewichtes.

Teil VI. Anwendung der Diffusion, Osmose und Quellung.

1. Hydrodiffusion. Bestimmung des Diffusionskoeffizienten.

Zwischen wäßrigen Lösungen von ungleicher Konzentration findet ein Ausgleich statt infolge des osmotischen Druckes, bis dieser in der gesamten Flüssigkeit gleich geworden ist. Die Geschwindigkeit, mit welcher dieser Austausch stattfindet, hängt ab von dem Unterschiede des osmotischen Druckes und von dem Diffusionskoeffizienten, einer Konstanten. Der Diffusionskoeffizient ist diejenige Menge Substanz in grm, welche bei stationärem Zustande und bei der Temperatur t in einem Tage durch 1 qcm fließen würde, wenn in derselben Richtung die Konzentration sich auf 1 cm um eins ändert. Bei manchen physiologischen Problemen spielt die Diffusionsgeschwindigkeit eine Rolle. Um bei Substanzen, deren Diffusionskoeffizient noch nicht bekannt ist (sehr zahlreiche Angaben in Landolt-Börnstein, Physikalisch-chemische Tabellen), denselben zu bestimmen, bedient man sich der Methode von Scheffer.

Eine Flasche E (Fig. 30) von etwa 90 cm³ Inhalt ist am unteren Ende zylindrisch (4 cm breit, 6,5 cm hoch) und wird mittels eines eingeschliffenen Stöpsels B geschlossen. Der Hals der Flasche hat etwa ein Lumen von 1,5 cm. Durch den Stopfen geht ein enges Rohr (11 cm Länge, 0,5 mm Lumen), welches einen Hahn F und die Kugel D trägt. Letztere faßt zwischen den Marken S_1 und S_2 etwa 16 cm³. Das Rohr endet dicht am Boden der Flasche. An dem Stopfen B ist ein schwach umgebogenes Rohr C ange-

schmolzen. Soll der Diffusionskoeffizient eines Stoffes bestimmt werden, so gibt man Wasser in die Flasche (das dreifache Volum der Pipette D) und bringt die Pipette mit der Lösung des betreffenden Stoffes gefüllt an ihre Stelle. Der ganze Apparat wird nun in einen Raum gebracht, dessen Temperatur möglichst konstant bleibt. Die Temperatur muß möglichst konstant sein, weil erstens der Diffusionskoeffizient pro Grad Temperatursteigerung sich um 2% erhöht und weil zweitens durch örtliche Temperaturunterschiede Konvektionsströme entstehen, welche den Diffusionsvorgang beschleunigen. Im gleichen Sinne wirken etwaige Erschütterungen des Apparates. Ist die Temperatur konstant geworden, so öffnet man den Hahn F und läßt sehr langsam zwecks Vermeidung einer Vermischung der Lösung mit dem Wasser, welches sich in E befindet, die Lösung in die Flasche ausfließen. Ist die Lösung bis zur Marke S_2 ausgeflossen, so schließt man den Hahn. Soll nun der Versuch unterbrochen werden, zwecks Bestimmung der diffundierten Menge der Substanz, so füllt man die Pipette wiederum mit der untersuchten Lösung und läßt diese durch Öffnen des Hahnes so lange in die Flasche ausströmen bis die Flüssigkeit, welche sich in E befindet, das Rohr C erreicht hat. Die Pipette wird aufs neue gefüllt und in E entleert, während man die bei C auslaufende Flüssigkeit in einem Kölbchen auffängt und zur Analyse beiseite stellt. Man fängt auf diese Weise vier gesonderte Teile auf, durch deren Analyse man die Mengen der gelösten Substanz, welche in die verschiedenen Schichten nach bestimmter Zeit diffundiert waren, erfährt.

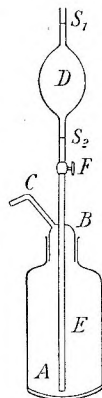


Fig. 30.

Um den Diffusionskoeffizienten zu bestimmen, wird die Formel zugrunde gelegt, daß der Stoffgehalt einer jeden Schicht gleich ist

$2 \sqrt{\frac{h}{Kt}}$, in welcher h die Höhe einer Schicht, K den Diffusions-

koeffizienten der zum Versuch verwendeten Lösung, t die Zeit vom Beginn des Versuches an gerechnet bedeutet. Aus dem gefundenen Stoffgehalt jeder Schicht, aus h und t läßt sich demnach K berechnen. Die genauere Ermittlung des Diffusionskoeffizienten ist ziemlich umständlich; es wird für die Theorie der Berechnung auf die Arbeit von Stefan verwiesen. [J. Stefan, Über die Diffusion der Flüssigkeiten, Sitzungsberichte d. kaiserl. Akademie der Wissenschaften, Bd. 79, II. 1879, p. 161]. Die Höhe h wird bestimmt, indem man mittelst eines Kathetometers die Niveauveränderung von Quecksilber in der Flasche bestimmt, welches aus der Pipette entsprechend dem zwischen den Teilstrichen der Pipette enthaltenen Volum in die Flasche eingeführt wird.

2. Osmose.

Hamburgers Apparat zur Untersuchung der Osmose.

Die Anwendung der Osmose, d. h. der Diffusion durch Membranen, welche zwei Flüssigkeiten voneinander trennen, ist schon zur Sprache gekommen bei den vorbereitenden Operationen und bei den Methoden zur Bestimmung des osmotischen Druckes. Die Osmose selbst wird wegen ihrer Bedeutung in der Physiologie Gegenstand der Untersuchung, indem man ihre Abhängigkeit von verschiedenen Faktoren untersucht. Ein Apparat der die Abhängigkeit der Osmose von der Natur und der Zusammensetzung der Membran, vom hydrostatischen Druck und von der Flüssigkeitsströmung zu untersuchen gestattet, ist von Hamburger konstruiert worden, der nach den Angaben des Autors hier beschrieben wird.

Das wesentliche des Apparates ist (Fig. 31) die Membran. Diese kann angefertigt werden aus Lösungen von Gelatine, von Gelatine und Agar-Agar und von Kollodium, und wird in

ein Rohr von Metallgaze eingelagert, indem man das Rohr in der betreffenden Flüssigkeit dreht. Nach Entfernung aus der Flüssigkeit wird das Rohr noch eine Zeitlang gedreht. Etwaige Lücken in den Metallmaschen füllt man nachträglich mittelst einer Pipette

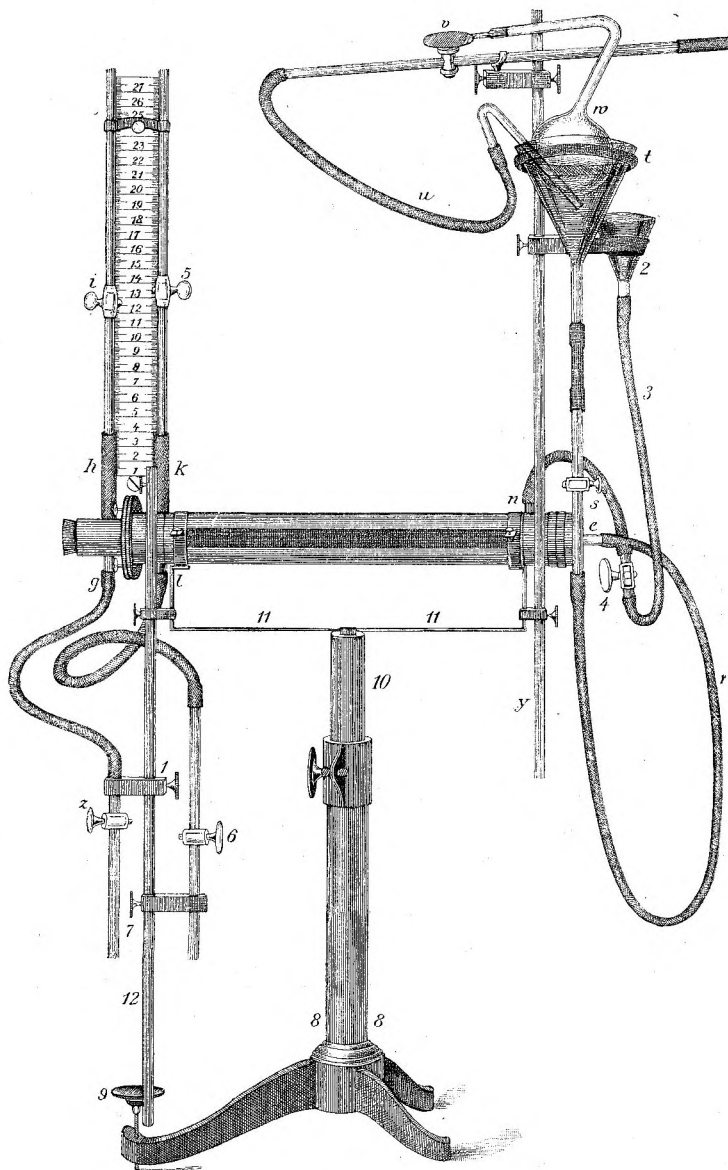


Fig. 31a.

aus. Das Rohr besteht aus gewalzter Nickelgaze, deren Maschen eine Länge und eine Breite von 0,8 mm besitzen. Das Rohr besitzt an beiden Enden Kupferstücke zur Verbindung mit anderen Teilen des Apparates. Am Ende b (siehe Fig 31b) wird das Rohr

mit einem Gummipfropfen d versehen, in welchen ein Glasrohr e paßt. Das Ende c wird an ein hohles Metallstück geschraubt, das mit einem Gummipfropfen verschlossen ist. Unten und oben treten aus dem Metallstück zwei Röhren g und h, welche mit dem Innern des Gazerohres kommunizieren. Die Röhre g ist durch einen Gummischlauch mit einem Glasrohr mit Hahn verbunden. Das so armierte Rohr wird in ein weiteres

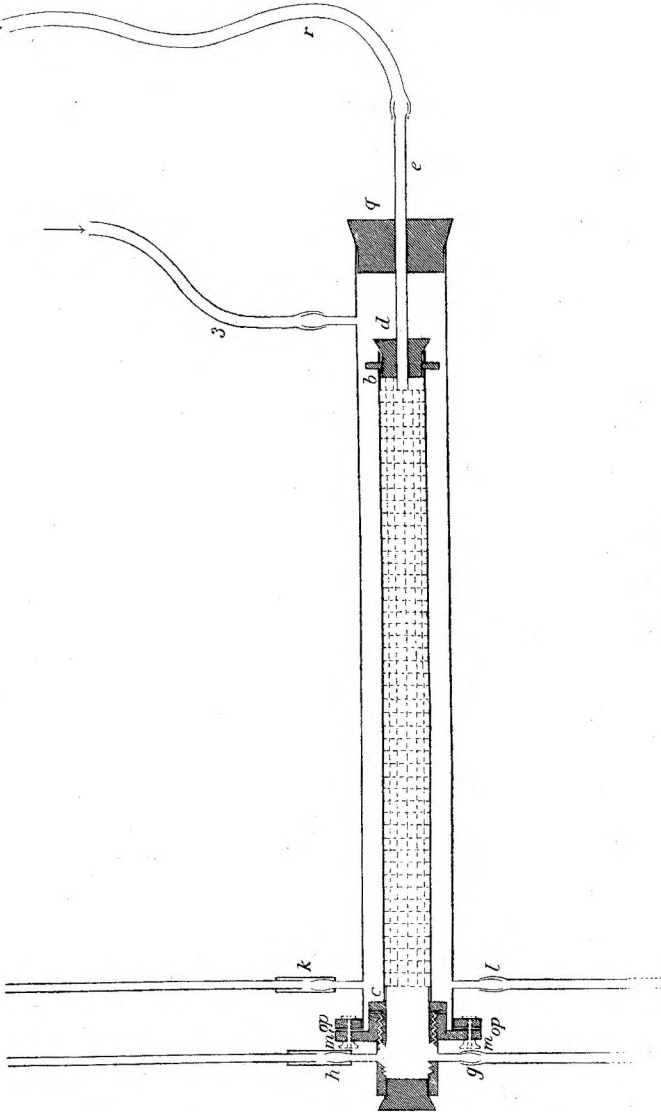


Fig. 31b.

Glasrohr eingesetzt, wie Figur 31b zeigt. Am linken Ende desselben befindet sich ein Kupferstück mit zwei Metallröhrchen k und e, am rechten Ende ragt, gleichfalls in einem Metallstück, ein Metallröhrchen p hervor. Das Gazerohr wird in der Weise, wie die Figur es zeigt, in das weitere Rohr eingesetzt und mit Hilfe von Schraubenmutter und Schrauben befestigt. Das rechte Ende der Außenröhre ist durch einen durchbohrten

Gummistopfen verschlossen. Durch die Bohrung geht eine in das Innenrohr führende Glasröhre, welche durch einen Schlauch mit einem großen Trichter in Verbindung steht. Durch diese Vorrichtung wird die Innenröhre gefüllt. Der Trichter kann durch einen Hahn abgeschlossen werden. Der Trichter *t* empfängt Flüssigkeit aus dem Röhren *u* und dieses wieder aus *v*; *v* ist ein Glashahn, welcher durch eine auf der Flüssigkeit im Trichter schwimmende gläserne Hohlkugel *w* reguliert wird. Auf diese Weise wird der Flüssigkeitsstrom aus einem mit *u* verbundenen Reservoir geregelt und die Flüssigkeit im Trichter auf konstantem Niveau gehalten. Die Druckhöhe der in das homogene Rohr strömenden Flüssigkeit kann nach Willkür variiert werden. Es kann sowohl der Ring, in welchem der Trichter *t* ruht und auch der Hahn mit Hohlkugel am Kupferstab entlang bewegt werden, und man kann auch den Kupferstab selbst verstellen. Wenn nach der Füllung eine Strömung gewünscht wird, so öffnet man den Hahn *z*. Je nach der Stellung dieses in der Höhe verstellbaren Hahnes ist der hydrostatische Druck auf der Membran ein verschiedener. Die Füllungsart des äußeren Mantelrohres ist aus der Figur leicht ersichtlich. Aus dem Rohr *K* kann man die Luft aus dem Mantelrohr entweichen lassen. Die mit dem Innen- und Außenrohr kommunizierenden Röhren *k* und *K* sind an einer Skala angebracht, an welcher man den Druck in beiden Röhren ablesen kann. Bei der Füllung ist darauf zu achten, daß die Membran keinen Riß bekommt, was man daran erkennt, daß die Flüssigkeit rasch im Rohre *h* sinkt. Eine anfängliche geringe Senkung ist auf Imbibition der Membran zurückzuführen. Das Außenrohr kann auch kontinuierlich durchströmt werden.

Bestimmung der Anfangsgröße der Osmose. (Lazarus Barlow).

Alle Bestimmungen des osmotischen Druckes, welche oben beschrieben wurden, sind Bestimmungen eines Endzustandes. Nach Lazarus Barlow spielt aber unter physiologischen Bedingungen weniger der Endzustand als vielmehr die Anfangsgröße der Osmose eine Rolle. Um diese Anfangsgeschwindigkeit zu bestimmen, hat Lazarus Barlow einen Apparat konstruiert, der im wesentlichen aus einer durch eine Membran (anwendbar sind verschiedene Arten von Membranen, und je nach der Membran variiert auch die Anfangsgröße der Osmose bei den einzelnen Substanzen) verschlossenen Röhre besteht. Die Geschwindigkeit, mit welcher in diese Röhre durch Osmose Wasser eindringt, läßt sich an einer daran angebrachten Skala ablesen. Nach Lazarus Barlow sind die Details seines Apparates und Verfahren der Benutzung desselben folgende:

Der Osmometer (Fig. 32) besteht aus zwei Teilen, dem Reservoir und dem Trichter, welche beide aus Glas gemacht sind. Das Reservoir kann 100 cem enthalten, und geht an einem Ende in eine mit einem Glaszapfen versehene Röhre aus. Das andere Ende

ist offen und mit einem starken Kupferseitenstück verkittet. Ein kleines Loch (*a*) befindet sich an dem höchsten Punkt der oberen Oberfläche. Ungefähr in der Mitte des Reservoirs ist ein durchlöcherteres dünnes Kupferdiaphragma angebracht, dessen Löcher 4 mm im Durchmesser sind, und wovon soviel als möglich in die Platte gebohrt werden;

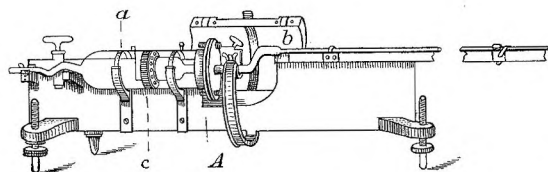


Fig. 32.

ein Seitenstück wird auf die Platte selbst zurückgeschlagen, um sie zu verstärken und es zu ermöglichen sie mit dem Reservoir zu verkitten. Sie liegt genau vertikal in dem Reservoir und ihre Oberfläche ist genau eben. Der Trichter ist auch aus Glas und ist mit einem Seitenstück versehen, in welches ein Glaszapfen gesteckt wird. Er kann 11,75 cem enthalten, wenn er bis zu dem Nullpunkt auf der Skala gefüllt ist. Die Mün-

dung ist eben geschliffen und darüber ist eine gleichzeitig durchbohrte Kupferplatte angepaßt wie die Scheibe im Reservoir. Diese Platte ist vorn leicht konvex und die Ränder sind nach unten gebogen über die hervorragenden Ränder der Mündung des Trichters und mit dem Glas verkittet. Der 10 cm lange Stiel des Trichters besteht aus Glasröhre mit einem inneren Bohrloch von ungefähr 8 mm, in welche seitlich die vorher erwähnte Röhre mit dem Glaszapfen sich öffnet und um welche, näher an der Mündung des Trichters als das Seitenstück eine starke kupferne Flansche entsprechend der Flansche auf dem Reservoir zementiert ist. Ungefähr 8 cm von der Mündung des Trichters ist dieser Stiel zwei Mal gebogen, so daß er ein Knie (b) bildet, und von diesem Punkt aus geht er aufwärts in einer weiteren Entfernung von 45 cm wie eine Thermometeröhre, mit einem Bohrloch von 1 mm im Durchmesser. Das Knie im Stiel des Trichters ist so hoch, daß, wenn beide Teile des Osmometers in Stellung sind und der Apparat nivelliert wird, die obere Oberfläche des Loches des thermometrischen Teiles des Stieles in derselben horizontalen geraden Linie (ab) wie die obere innere Oberfläche des Reservoirs ist. Die Kupferflanschen sind an ihren entgegengesetzten Seiten ausgehöhlt um einen Kautschukring aufzunehmen, und sind mit drei Löchern versehen, durch welche Schraubenmuttern gehen, um die beiden Flanschen dicht zusammen zu verbinden. Die durchlöchernte Scheibe im Reservoir steht so, daß wenn auf den Gummiring durch Drehen der Schrauben in den Flanschen ein gelinder Druck ausgeübt wird, die leicht konvexe Platte an die Mündung des Trichters gepreßt wird, und die Konvexität zu einer flachen Oberfläche reduziert wird. Wenn daher die Teile des Instruments zusammengeschraubt sind, sind die zwei durchlöchernten Scheiben in vollkommenem Kontakt, sind eben und haben entsprechende Durchlochungen, die einander gegenüber liegen. Der Apparat ruht auf einem Ständer, welcher mit Nivellierschrauben versehen ist, und unter den thermometrischen Teil des Stieles wird eine Millimeterskala in das Holz eingelassen. Das Holz, aus welchem das Gestell und besonders der Teil welcher den Stiel trägt gemacht ist, ist von Wichtigkeit, da es der Feuchtigkeit und daher dem Werfen unterworfen ist. Es ist aus gut abgelagerter Fichte gemacht. Der Apparat ist auch mit einer Nivellierwage versehen, welche auf dem Reservoir und dem mit enger Bohrung versehenen Teil des Stiel des Trichters ruht.

Die Membran wird feucht auf den Trichter aufgebunden; für ihre Dichtung ist besonders bei dem Aufbinden zu sorgen. Zum Reinigen muß das Instrument vollständig auseinander genommen und mehrfach mit 10 % Kalilauge gewaschen werden.

Nachdem die Membran befestigt und der Apparat zusammengestellt worden ist, wird destilliertes Wasser langsam in den Trichter durch das Seitenstück vermittelst einer Spritze gebracht bis es einen bestimmten Punkt in dem Thermometerrohr erreicht, welcher notiert wird. Den Apparat läßt man dann eine Zeitlang in der vertikalen Stellung, und wenn kein sichtbares Durchsickern durch oder um die Membran vorkommt, wird das Reservoir gefüllt und man läßt die Membran sich während 12 Stunden vollsaugen. Der Trichter wird dann geleert und mit einer Lösung deren Anfangsgeschwindigkeit der Osmose man bestimmen will, ausgewaschen, wieder geleert und endgültig mit der Lösung gefüllt bis Trichter und Stiel vollkommen voll sind. Man muß natürlich den Apparat zu diesem Zwecke vertikal halten. Das Osmometer wird dann auf das Gestell gestellt und das Reservoir mit der als Lösungsmittel für das zu untersuchende Kristalloid benutzten Flüssigkeit gefüllt bis nur ein kleiner Raum an der Öffnung der Spitze bleibt. Die Flüssigkeit in dem Stiel des Trichters wird wieder auf den Nullpunkt zurückgebracht und der Versuch beginnt. Die Beobachtungen werden alle fünf Minuten gemacht und der Apparat bleibt unberührt während der ganzen Dauer eines Versuchs. Nach Verlauf von 3 Stunden werden Reservoir und Trichterflüssigkeiten in zugestopfte Flaschen ausgeleert und einzeln auf Gefrierpunkt und Prozentzusammensetzung untersucht. Auf diese Weise ist es möglich die Menge der Substanz, welche dialysiert ist und auch die osmotische Partialspannung des Systems zu bestimmen. Absolute Werte kann man mit dieser Methode nicht erhalten, sondern muß die Geschwindigkeit der Osmose der einzelnen untersuchten Substanzen vergleichen mit einer willkürlich ausgewählten Ausgangsflüssigkeit.

Methode von Bechhold (und Ziegler) zur Untersuchung der Diffusion in Gallerte. Die Methode von Bechhold bezweckt, den

Diffusionsweg in Gallerten unter verschiedenen experimentellen Bedingungen zu untersuchen. Die Diffusion findet in besonders präparierten Reagensröhren statt.

Die benutzte reine Speisegelatine wird unter Zusatz von einigen Körnchen Kampfer zwei Tage in fließendem Wasser dialysiert. Darauf wird die Gelatine geschmolzen, eine Spur Natronlauge bis zu neutraler Reaktion zugesetzt. Hierauf wird mit Wasser aufgefüllt, beziehentlich im Wasserbade eingedampft, bis eine 20% Gelatinelösung hergestellt ist. Dann wird diese eine Stunde auf dem Wasserbade gekocht und der mit der Masse gefüllte Kolben mit steriler Watte verschlossen. Die 20% Gelatine dient als Ausgangsmaterial. In gleicher Weise wird mit Agar verfahren, nur besteht hier das Ausgangsmaterial aus 8% Agargallerte. Die auf 5 cm Höhe mit solcher Gallerte gefüllten Reagensgläser werden je in ein Glas mit 40 cm³ Diffusionsflüssigkeit gestellt. Das im Einzelfalle einzuschlagende Verfahren werde an einem Beispiel veranschaulicht, wobei die Diffusion von NaCl in mit Traubenzucker versetzter Gelatine untersucht werden soll und zwar 20% Gelatine mit einem Gehalt von 1 Mol Traubenzucker, in welche eine Lösung von 1 Mol NaCl diffundieren soll. Es werden in 5 cm³ Wasser 1,98 gr Traubenzucker aufgelöst und vier Tropfen einer Lösung von 1 Mol AgNO₃ zugesetzt. Darauf werden 5 cm³ 40% Gelatinelösung angesetzt, im Wasserbade wird bei 45° gemischt, nachdem im ganzen noch zwei Tropfen von 1 Mol NaCl Lösung beigelegt worden sind. Diese Imprägnierung geschieht, um die nachherige Ausscheidung von Ag₂ Cl₂ durch Erzeugung einer kleinen Menge im Voraus zu erleichtern. Nach der Mischung wird gewartet bis alle Luftblasen in die Höhe gestiegen sind. Hierauf entnimmt man aus der homogenen, ganz leicht durch die Imprägnierung getrübbten Gallerte mittels Pipette ein Quantum heraus und füllt damit ein gewöhnliches Reagensglas auf 5 cm Höhe auf. Nach dem Erstarren stellt man es in ein Glas mit 40 cm³ Flüssigkeit, die einem Gehalt von 1 Mol NaCl und 1 Mol Traubenzucker entspricht. Nach einiger Zeit erkennt man an der verstärkten Trübung sehr scharf den Diffusionsweg des NaCl. In gleicher Weise verfährt man bei der Diffusion von Na₂ SO₄, nur benutzt man hier zur Imprägnierung 2 Mol BaCl₂ vier bis fünf Tropfen, 2 Mol Na₂ SO₄ zwei Tropfen.

Bei der Agargallerte ist ein kleiner Kunstgriff nötig, damit die Gallerte an der Glaswand haftet und nicht durch Eindringen von Diffusionsflüssigkeit zwischen Glaswand und Agar die Resultate beeinträchtigt werden. Man stellt sich eine 10% Gelatine mit einem Gehalt von 3% Kaliumbichromat her, füllt die zur Aufnahme der Agargallerte bestimmten Reagensröhren damit an, läßt sofort wieder auslaufen und setzt diese Röhren mehrere Stunden dem Tageslichte aus. Dadurch wird die Chromgelatine wasserunlöslich. Um die Reaktion, beziehentlich die Reaktionsveränderung, in solchen Gelatinediffusionsröhren zu erkennen, wird Rübensaft benutzt. Derselbe wird durch Säuren rot, durch Alkalien gelb gefärbt. Zu seiner Herstellung werden mehrere mittelgroße Rüben geschält, in Scheiben geschnitten, mit 1/2 Liter Wasser übergossen, gekocht und dabei das Wasser bis auf 1/4 Liter eingedunstet und filtriert.

Die Methode von Bechhold kann nach Asher (nicht veröffentlichte Versuche) benutzt werden, um den Einfluß von Organpreßsäften auf die

Diffusion zu untersuchen. Zu diesem Zwecke werden die Gelatineröhrchen, außer der oben beschriebenen Füllung, noch mit einigen Tropfen von Organpreßsäften versehen. Auch mit den aus Organen durch Äther extrahierten Lipoidstoffen lassen sich diese Gelatineröhrchen imprägnieren.

3. Methoden zur Untersuchung der Quellung.

Man unterscheidet die kapilläre Imbibition, die Imbibition durch Endosmose und die molekuläre Imbibition. Die letztere, welche zu den Adsorptionserscheinungen gehört, ist die echte Quellung. Dieselbe wird nach dem Vorgange von Hofmeister wegen ihrer hohen biologischen Bedeutung öfters Gegenstand der Untersuchung, da sie Aufschluß über wichtige physikalisch-chemische Eigenschaften der Kolloide gewährt.

Methode von Hofmeister.

Man benützt dünne Platten aus Agar-Agar oder Leim. Dieses Material schließt den Einfluß der kapillären und endosmotischen Imbibition aus. Die Gelatine sowie auch das Agar-Agar werden zunächst mit destilliertem Wasser anhaltend gewaschen, wobei sie einen erheblichen Teil der in ihnen stets enthaltenen löslichen Verunreinigungen abgeben. Die in der Kälte gequollenen Massen werden dann in der Wärme gelöst, filtriert, die klare Flüssigkeit zur Herstellung von Platten auf eine horizontal stehende Spiegelglasplatte gegossen, wobei die gewünschte Dicke der Platten durch Ausbreiten mit einem warmen Platindraht oder durch Übersichten einer bereits halberstarrten aber zu dünn geratenen Platte mit einer neuen Schicht der Gallertlösung erzielt wird. Während die Herstellung der Gelatineplatten keine Schwierigkeiten macht, ist doch solches manchmal bei den wegen ihrer Resistenz gegen Fäulnis sehr brauchbaren Agarplatten der Fall. Die gegossenen Platten werden von der Glasplatte vorsichtig abgelöst, erst bei Zimmertemperatur, dann bei 100 getrocknet. Nach dem Trocknen soll ihre Dicke nicht über 0,2 mm betragen. Es werden daraus mit einer scharfen Schere unter Vermeidung der oft etwas verdickten und geschrumpften Ränder ovale oder stumpf rechteckige, ganz glattrandige Stücke geschnitten, deren Gewicht etwa 0,01 bis 0,05 g beträgt. Die Plattenstücke werden im Exsiccator über Schwefelsäure aufbewahrt. Die Plattenstücke werden genau gewogen und dann für eine bestimmte Zeit in Wasser gebracht. Nach Ablauf dieser Zeit werden sie zwischen nicht fasernden Löschblättern abgetrocknet. Das Abtrocknen muß mit einiger Sorgfalt ausgeführt werden; es wird damit beabsichtigt, nur das anhängende, aber nicht das Quellungswasser zu entfernen. Wenn aus der Außenschicht auch Quellungswasser entzogen wird, was bei zu dünnen Platten vorkommt, schleicht sich ein konstanter Fehler ein, der bestimmt werden muß. Das Einlegen der Platten in Wasser und Wiederwägen wird so lange wiederholt, bis keine deutliche Gewichtszunahme mehr erkennbar ist; d. h. bis das Quellungsmaximum erreicht worden ist. Platten von mehreren Millimeter Dicke erreichen dasselbe erst nach Wochen. Zwischen dem Gewicht W Wasser, welches von einem Gewichtsteil trockner Substanz in t Minuten aufgenommen wird, und dem Quellungsmaximum P besteht nach Hofmeister die Beziehung

$$W = P \left(1 - \frac{1}{1 + \frac{c}{d} t} \right)$$

wo c eine aus der Versuchsreihe zu berechnende Konstante, d den Dicken-
durchmesser der Platte in maximal gequollenem Zustande und zwar in
Millimetern gemessen bedeutet. Wenn es sich darum handelt die Beteiligung
gelöster Stoffe an Quellungsvorgängen zu untersuchen, werden dickere
Leimscheiben verwendet. Sie werden derart hergestellt, daß eine konzen-
trierte salzarme Leimlösung auf eine genau horizontal gestellte Spiegelglas-
platte in eine aus gebogenen Glasstäben gebildete Umrahmung gegossen
wird, worauf aus der erstarrten und abgelösten Leimplatte mittelst Locheisens
genau gleich große Scheiben herausgeschlagen werden. Dieselben kommen
zunächst in eine große feuchte Kammer, woraus sie ohne Zeitverlust nach-
einander behufs Wägung und Einbringen in die bereitstehende Lösung ent-
nommen werden. Die in die Lösungen eingebrachten Scheiben werden am
nächsten, dritten, auch an späteren Tagen zur gleichen Stunde herausgenommen
und nach sorgfältigem, aber sehr vorsichtigem Abtrocknen mit Filterpapier
gewogen. Das Quellungsmaximum läßt sich, da wegen der Dicke der Schei-
ben dasselbe auch in Tagen nicht erreicht wird, nicht bestimmen. Hinge-
gen wird außer der Gewichtszunahme noch die aufgenommene Stoffmenge
bestimmt. Die Leimplatten lassen sich auch benutzen um quantitative Ver-
suche über die Aufnahme von Farbstoffen in quellbare Körper zu untersuchen
(Hofmeister, Spiro).

Untersuchung der Quellung durch Ermittlung der Schmelz- und Erstarrtemperatur von Salzgelatinen. (Pauli).

Pauli hat zur Untersuchung des Einflusses von Salzen auf quellbare
Körper die Methode der Bestimmung des Schmelz- und Erstarrungspunktes
angewandt. Hierzu dient eine dem Beckmannschen Apparate ähnliche
Vorrichtung. Eine größere Eprouvette, die mit einem in Zehntel Celsius-
grade geteilten Thermometer und einem Rührer versehen ist, taucht in ein
Literbecherglas, welches das entsprechend temperierte Wasser samt Rührer
und Thermometer enthält. In die Eprouvette werden stets 15cm^3 der meist
 10% Gelatine eingebracht und nun wird die Temperatur, bei welcher das
Thermometer eben festgehalten wird, als Erstarrpunkt und der, bei welcher
dasselbe leicht aus der Gelatine gezogen werden konnte, als Schmelzpunkt
angesehen. Bei einiger Übung gibt diese Methode Resultate, die nur um
wenige Zehntel differieren.

Teil VII. Anwendung des Verteilungsprinzipes.

Wenn sich ein Stoff zwischen zwei flüssigen Lösungsmitteln verteilt und er
dabei in beiden Lösungsmitteln das gleiche Molekulargewicht besitzt, so
besteht ein bestimmtes Verhältnis der räumlichen Konzentrationen des Stoffes
in den beiden Lösungsmitteln, welches als Teilungskoeffizient bezeichnet
wird. Ist c_1 die Konzentration in einem Lösungsmittel, c_2 diejenige im zweiten,
so ist unter der genannten Bedingung der Teilungskoeffizient $\frac{c_1}{c_2}$ eine Kon-

stante. Besitzt aber der Stoff in den beiden Lösungsmitteln verschiedenen Molekularzustand, so hat der Teilungskoeffizient einen anderen Wert, z. B. wenn der betreffende Stoff in einem Lösungsmittel aus Doppelmolekülen besteht, so ist der Teilungskoeffizient $= \frac{c_1}{\sqrt{c_2}}$ (Nernst). Das Verteilungsprin-

zip besitzt in der Biologie eine große Bedeutung, weil im Organismus sehr oft einem Stoff Gelegenheit geboten ist, zwischen zwei Lösungsmitteln sich zu verteilen (siehe darüber besonders Spiro, Über physikalische und physiologische Selektion. Habilitationsschrift. Straßburg 1897); auch andere den Biologen interessierende Vorgänge können hinsichtlich ihrer Beziehung zum Verteilungsprinzip untersucht werden, z. B. die Narkose, die histologische Färbung u. a. Eine Methode der Bestimmung besteht darin, daß man den zu untersuchenden Stoff so lange in Berührung mit den beiden Flüssigkeiten läßt, bis Gleichgewicht eingetreten ist. Handelt es sich um zwei nicht mischbare Lösungsmittel, so schüttelt man ein Gemenge der beiden Lösungsmittel im Scheidetrichter mit dem betreffenden Stoff, läßt absitzen und analysiert die getrennten Lösungsmittel auf ihren Gehalt an dem Stoff. Zweckmäßigerweise wird man die Teilungskoeffizienten c_1 mit verschiedenen Mengen zugesetzten Stoffes bestimmen. Diese Methode ist aber nur dann anwendbar, wenn hinreichend große Mengen der Lösungsmittel zur Verfügung stehen und die quantitative Analyse des zu untersuchenden gelösten Stoffes eine zuverlässige ist. Von den im tierischen Körper vorkommenden Flüssigkeiten und Zellflüssigkeiten stehen oft nur geringe Mengen zur Verfügung. Dann behilft man sich mit einer Substanz, welche mehr oder weniger ähnliche Eigenschaften mit der betreffenden Körpersubstanz zu haben scheint, z. B. wendet man anstatt der Zelllipoiden Olivenöl an, anstatt Lymphe Wasser.

1. Anwendung des Teilungskoeffizienten bei der Milchsäurebestimmung im Magensaft. (F. A. Hoffmann).

Hoffmann und Vollhardt bestimmten den Teilungskoeffizienten der Milchsäure im Mittel zu 10,4. Schüttelt man also mit Äther aus, titriert den Äther mit Lauge und multipliziert den gefundenen Säurewert mit 10,4, so erhält man die im Wasser vorher vorhandene Äthermenge. Ob es vorteilhafter ist, mit wenig Äther oft hintereinander oder auf einmal mit einer großen Menge Äther zu schütteln, ergibt sich aus folgender Betrachtung:

Sind gleiche Mengen Wasser und Äther vor und nach der Schüttlung vorhanden, was nur annähernd richtig ist, enthält die gesamte wäßrige Lösung im Anfange A Milchsäure, nennt man den Teilungskoeffizienten K, ist die Menge Milchsäure, welche durch einmaliges Schütteln in die einfache Menge Äther übergeht x, so ist $\frac{A-x}{x} = K$, woraus sich die in Wasser und

x

m

Äther vorhandene Milchsäure berechnen läßt.

Nach Schütteln: in Wasser

in Äther

$$1 \text{ mal } \frac{AK}{K+m}$$

$$\frac{Am}{K+m}$$

$$\begin{array}{ll} 2 \text{ mal } \frac{AK^2}{(K+m)^2} & \frac{AmK}{(K+m)^2} \\ n \text{ mal } \frac{AK^n}{(K+m)^n} & \frac{AmK^{n-1}}{(K+m)^n} \end{array}$$

An der Hand der obigen Formeln wird man je nach der Menge der zu bearbeitenden Flüssigkeit und der erstrebten Genauigkeit die Zahl der Schüttelungen berechnen. Am einfachsten wird man immer das 10,4fache Volumen der zu untersuchenden Flüssigkeit nehmen, am besten gleich wasserhaltigen Äther, um das Volumen beim Schütteln so wenig wie möglich zu ändern. Es geht dann in den Äther genau die Hälfte der Milchsäure über, welche in der zu untersuchenden Flüssigkeit steckt. Die Methode ist aber nur dann richtig, wenn beim Schütteln einzig als wesentlich in den Äther übergehend Gährungsmilchsäure in Betracht kommt. Die Methode der Milchsäurebestimmung durch Berechnung mit Hilfe des Teilungskoeffizienten hat den Vorzug, daß die im Magensaft vorhandene Salzsäure keinen in Betracht kommenden Fehler verursacht.

2. Overtons physiologische Methode zur Bestimmung des Teilungskoeffizienten der Narkotika.

Zuerst bestimmt man die Konzentration des zu untersuchenden Narkotikums in Wasser, welche lebende Zellen, z. B. junge Kaulquappen von 9—14 mm Länge, Entomostriken, Infusorien usw., grade vollständig narkotisiert. Aus einer Reihe von Versuchen gewinnt man Mittelwerte. Hier auf werden Olivenöl und Wasser in einem bekannten Verhältnis mit einer bestimmten Menge des zu untersuchenden indifferenten Narkotikums geschüttelt. Nach Absetzung wird geprüft, ob die wäßrige Lösung das Objekt narkotisiert. Ist das der Fall, so fügt man zum Gemisch eine abgemessene Quantität Wasser, prüft wieder und wiederholt, bis in der wäßrigen Lösung eine bestehende Narkose etwas zurückgeht. Diese wäßrige Lösung besitzt dann den vorhin gefundenen Mittelwert der Konzentration. Aus dem Verhältnis der Konzentrationen in der wäßrigen Lösung und im Olivenöl berechnet sich der Teilungskoeffizient. Man braucht bei dieser Methode nur sehr geringe Mengen des Narkotikums.

Teil VIII. Bestimmung der inneren Reibung (Viskosität).

Prinzip. Nach dem Gesetz von Poiseuille gilt für das aus einer engen Röhre ausfließende Flüssigkeitsvolumen

$$v = \frac{\pi (p_1 - p_2) r^4 t}{8 \eta l} \quad \text{oder} \quad \eta = \frac{\pi (p_1 - p_2) r^4 t}{8 v l}. \quad (1)$$

In diesem Ausdruck ist l die Länge der Röhre, r der Radius des Querschnittes, η der Reibungskoeffizient. Der letztere wird dahin definiert, daß er die Kraft in Dynen und pro Quadratcentimeter bedeutet, welche zwei Flüssigkeitsschichten aufeinander ausüben, die 1 cm voneinander liegen und eine Differenz der Geschwindigkeit von 1 cm pro Sekunde besitzen. $p_1 - p_2$ ist der Druckunterschied am Anfang und Ende der Röhre. Wenn die

Flüssigkeit unter dem Einfluß ihres eigenen Gewichtes ausfließt, ist der Druckunterschied $p_1 - p_2$ zu ersetzen durch $g d h$, wo g die Erdbeschleunigung, d die Dichte und h die mittlere Niveaudifferenz ist. In der Praxis, speziell in der physiologischen Praxis, verzichtet man meist auf die Bestimmung des absoluten Reibungskoeffizienten und begnügt sich mit der Ermittlung des relativen, wobei man die Reibung des Wassers bei der Versuchstemperatur $\eta_0 = 1$ setzt; anstatt Wasser kann man auch eine andere Flüssigkeit, z. B. Anilin, als Normalflüssigkeit nehmen. Dann ist

$$\eta = \frac{\eta_0 s t_1}{s_1 t_1} \quad (2)$$

wobei η den relativen Reibungskoeffizienten der untersuchten Flüssigkeit, η_0 denjenigen der Normalflüssigkeit, s das spezifische Gewicht der untersuchten, s_1 das spezifische Gewicht der Normalflüssigkeit und t beziehentlich t_1 die Ausflußzeiten der beiden Flüssigkeiten sind.

Anmerkung. Die Gültigkeit des Poiseuilleschen Gesetzes ist angezweifelt worden, doch zeigen eine Reihe neuerer Untersuchungen (es sei auf die während der Korrektur erschienene Arbeit von Brodie, du Bois Reymond und Franz Müller an dieser Stelle ausdrücklich hingewiesen; Engelmanns Arch. 1907, S. 37), daß innerhalb des Bereichs der im tierischen Organismus vorkommenden Bedingungen dasselbe jedenfalls zutreffend ist.

Die Kenntnis der inneren Reibung ist erforderlich zur Beurteilung der Arbeit, welche bei der Verschiebung einer Flüssigkeit geleistet wird; sie kommt also in Betracht in der Lehre vom Kreislaufe und bei den Flüssigkeitsaustauschen, welche, normal oder experimentell hervorgerufen, innerhalb der Gewebe sich abspielen.

1. Bestimmung des relativen Reibungskoeffizienten mit dem Viskosimeter von Ostwald.

Die hier abgebildete Reibungsröhre wird in einen durchsichtigen Thermostaten (siehe Katalog der Firma Fr. Köhler, Leipzig) genau vertikal eingesetzt (Fig. 33). Genaue Temperaturregulierung durch Regulator und Rührwerk ist erforderlich. Die zu untersuchende Flüssigkeit wird in einem Gefäße innerhalb des Thermostaten aufbewahrt. Man füllt bei f eine genau gemessene Menge ein, saugt bei a bis die Flüssigkeit bis über die Marke c gestiegen ist und läßt die Flüssigkeit unter ihrem eigenen Druck ausfließen, bis sie durch die Marke d tritt. In gleicher Weise verfährt man mit der zum Vergleich angewandten Normalflüssigkeit. Das spezifische Gewicht beider Flüssigkeiten bestimmt man am besten mit dem Ostwald-Sprengelschen Pyknometer. Zur Zeitbestimmung bedient man sich eines Chronometers in Taschenuhrform mit langem Sekundenzeiger; am bequemsten sind die von einigen Schweizer Firmen gelieferten Chronometer mit sogenanntem springenden Sekundenzeiger (auch $\frac{1}{5}$ Sekundenzeiger). Durch Drücken auf den Aufzugsknopf wird der Sekundenzeiger ausgelöst, auf das zweite Drücken festgehalten, der dritte Druck bringt den Zeiger wieder auf Null zurück. Die Berechnung erfolgt nach Formel (2).

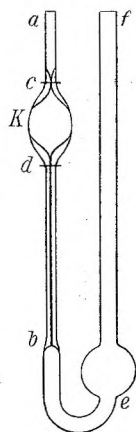


Fig. 33.

2. Bestimmung des relativen Reibungskoeffizienten des Blutes nach Beck und Hirsch.

Die Methode von Beck und Hirsch ist prinzipiell die gleiche wie diejenige von Ostwald, sie unterscheidet sich von derselben nur durch die Anwendung eines anderen Viskosimeters und eines besonderen Druckapparates. Der letztere (siehe Figur 34a) besteht aus einem Handgebläse g, einem Chlorkalziumrohr C, einer Mariotteschen Flasche F mit Strahlungsschutzmantel und einem mit gefärbtem Benzol gefüllten Manometer M. Zunächst wird die Druckvorrichtung von dem Viskosimeter getrennt und an der Trennungsstelle durch eine starke Schraubenklemme geschlossen. Hierauf wird vermittelt des Handgebläses ein Druck von 452 mm Benzol hergestellt, worauf der Glashahn zwischen Chlorkalziumrohr und Mariottescher Flasche abgeschlossen wird. Inzwischen befindet sich das Viskosimeter (Figur 34b) in einem Luftbad von 38°. Nach Abnahme des Verschlußstückes V kommt das zu untersuchende Blut in die Ampulle N. Hierauf wird das Verschlußstück V aufgesetzt und das Viskosimeter in dem Gestell innerhalb des Thermostaten

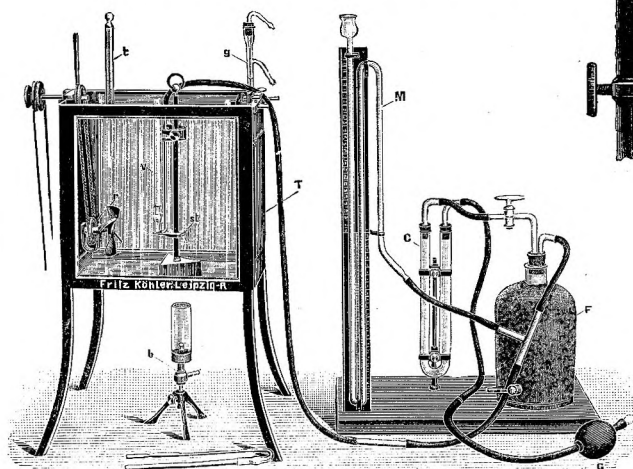


Fig. 34a.

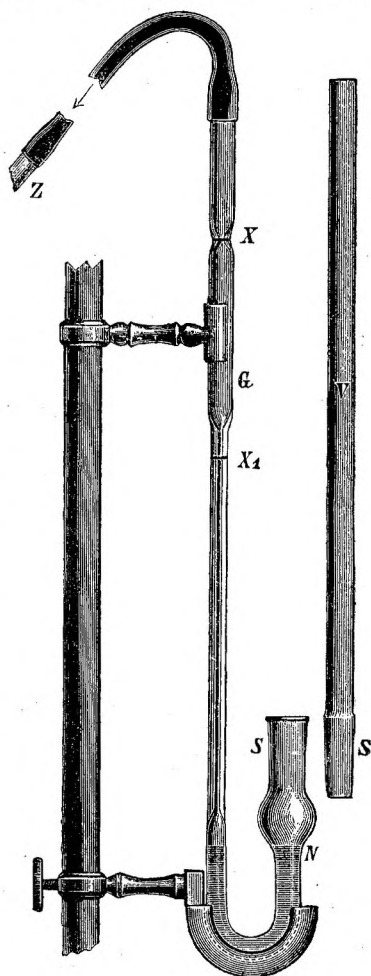


Fig. 34b.

senkrecht aufgehängt. Man saugt nun das Blut von Z her bis etwas oberhalb der Marke X des Viskosimeters, verbindet rasch mit dem Druckapparat und öffnet die Schraubenklemme.

Unter dem Druck von 452 mm Benzol wird das Blut dann nach abwärts gepreßt. Im Moment, wo die Marke X passiert wird, setzt man den Chronometer in Gang

und arretiert ihn beim Passieren der Marke X₁. Hierauf wird die Verbindung nach dem Druckapparat wieder abgeklemmt und die Messung wiederholt. Früher war das Arbeiten mit dem Apparat von Beck und Hirsch wegen der Blutgerinnung schwieriger; seitdem im Hirudin ein Mittel vorliegt, ohne Veränderung der Viskosität die Gerinnung des Blutes aufzuheben, ist die Bestimmung wesentlich erleichtert. Zur Ermittlung der relativen η -Werte bestimmt man an einem Ostwaldschen Viskosimeter (siehe oben) die Durchflußzeit von destilliertem Wasser bei 38°. Das Beck-Hirschsche Viskosimeter eignet sich hierzu nicht, weil es für Wasser zu kurze Ausflußzeit besitzt. In dem gleichen Ostwaldschen Viskosimeter bestimmt man die Ausflußzeit für Anilin nun bei 38°. Auf diese Weise findet man den relativen η -Wert des Anilins bei 38°. Anilin wurde von Beck und Hirsch gewählt, weil es eine ähnliche Viskosität wie Blut hat, so daß man mit dem Beck-Hirschschen Apparat stets die Durchflußzeit des Blutes mit derjenigen von Anilin vergleichen kann, dessen relativer η -Wert ein für allemal bestimmt wird. Der relative η -Wert von Anilin beträgt nach Beck und Hirsch 3,75, nach Bence 3,84, nach Kottmann 3,73, bei einem spezifischen Gewicht von 1021. Das spezifische Gewicht des Hirudinblutes wird man mit einem der früher beschriebenen Pyknometer bestimmen. Die Viskosimeterrohre werden durch Ausspülen mit verdünnter Natronlauge oder Sodalösung und Nachspülen mit destilliertem Wasser gereinigt und hierauf in einem Trockenschrank getrocknet. Blut mit Hirudinzusatz kann zentrifugiert werden, wodurch man ein zu Viskositätsbestimmungen sehr geeignetes, praktisch unverändertes Blutplasma gewinnt (Heubner, Kottmann). Die Methoden zur Entnahme von Blut sind früher beschrieben worden.

3. Apparat von Heubner zur Bestimmung der Viskosität des Blutes.

Das Wesentliche am Apparat von Heubner ist aus der Figur 35 ersichtlich. Die Benutzung von Hirudin gestattet für Blut oder von Plasma, welches bei 0° gewonnen wird, von der Beck-Hirschschen Druckmethode abzusehen und ein dem Ostwaldschen Viskosimeter ähnliches Rohr anzuwenden. Insbesondere dient der Apparat von Heubner dazu, die Viskosität des unveränderten Blutplasmas bei 0° zu bestimmen, wodurch etwaige Schlüsse an Sicherheit gewinnen.

Anmerkung. Auf Heubners wichtige Einwände gegen die Allgemeingültigkeit des Poiseuilleschen Gesetzes sei ausdrücklich hingewiesen. (Heubner, Archiv f. exp. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 53. 1905 S. 280).

4. Apparat von du Pré Denning und John H. Watson zur Bestimmung der Viskosität des Blutes.

Prinzipiell ist die Apparatur von Pré Denning und Watson die gleiche wie diejenige der anderen hier beschriebenen Methoden. Das besondere daran sind die Abänderungen, welche bezwecken, eine Gefahr, welche den

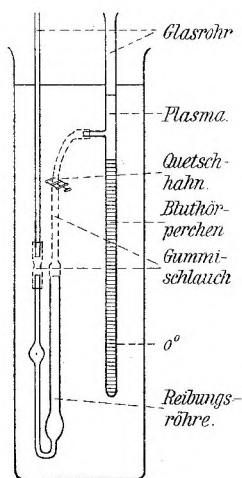


Fig. 35.

beschriebenen Viskositätsbestimmungen anhaftet, zu beseitigen. Es besteht nämlich die Gefahr der raschen Sedimentierung der Blutkörperchen.¹⁾ Um diese zu vermeiden ist das Lumen der Kapillare des Viskosimeters (Fig. 36a) an der U-förmigen Biegung erweitert, sodann ist das Rohr oberhalb der kleinen Glaskugel m^{II} mit Schlangenwindungen versehen, schließlich wird kurz vor dem Beginn der Messung zur gehörigen Vermischung des Blutes ein schwacher Luftstrom durchgesaugt. Hierzu dient die in Figur 36 b ab-

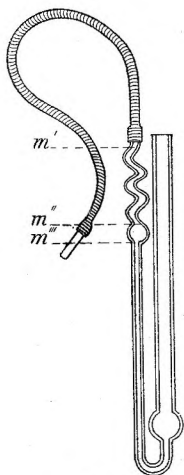


Fig. 36a

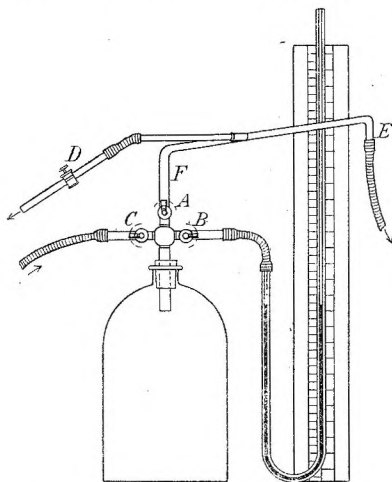


Fig. 36b.

gebildete Vorrichtung (Rohr D), die gleichzeitig als Druckapparat benutzt werden kann, indem in der großen Flasche vermittelt einer Druckpumpe Druck erzeugt wird, der nach Abschluß von Hahn C und D auf das Viskosimeter und das Manometer wirkt. Das Blut wird mit einer kalibrierten Pipette in die weitere Glaskugel des Viskosimeters aufgefüllt, Luft durchgesaugt, dann das Blut bis zur Marke m^{I} aufgesogen, sodann das Passieren der Blutsäule zwischen den Marken m^{II} und m^{III} mit Hilfe des Chronometers bestimmt.

5. Hürthles Methode zur Bestimmung der Viskosität des lebenden Blutes.

Die Hürthlesche Methode bezweckt die Viskosität des lebenden Blutes ohne jeden Zusatz zu bestimmen. Die einzelne Messung muß daher innerhalb einer halben Minute ausgeführt werden. Deshalb läßt man das Blut unmittelbar aus der Arterie des lebenden Tieres durch eine Kapillarröhre strömen und benützt als treibende Kraft den aktuellen Blutdruck. Nach Hürthle (auf dessen Arbeit verwiesen wird) sind die Details der Methode folgende.

Die Ausflußzeit, d. h. diejenige Zeit, während welcher das zur Volumbestimmung gelangende Blut durch die Glaskapillare fließt, wird mit Hilfe des Kymographions bestimmt, auf welchem einerseits die Zeit in $\frac{1}{5}$ oder $\frac{1}{100}$ Sekunde, andererseits Beginn und Ende des Sammelns von Blut selbsttätig registriert wird.

1) Auch bei allen anderen Flüssigkeiten, welche korpuskuläre Elemente enthalten, ist Vorkehrung gegen die Sedimentierung zu treffen.

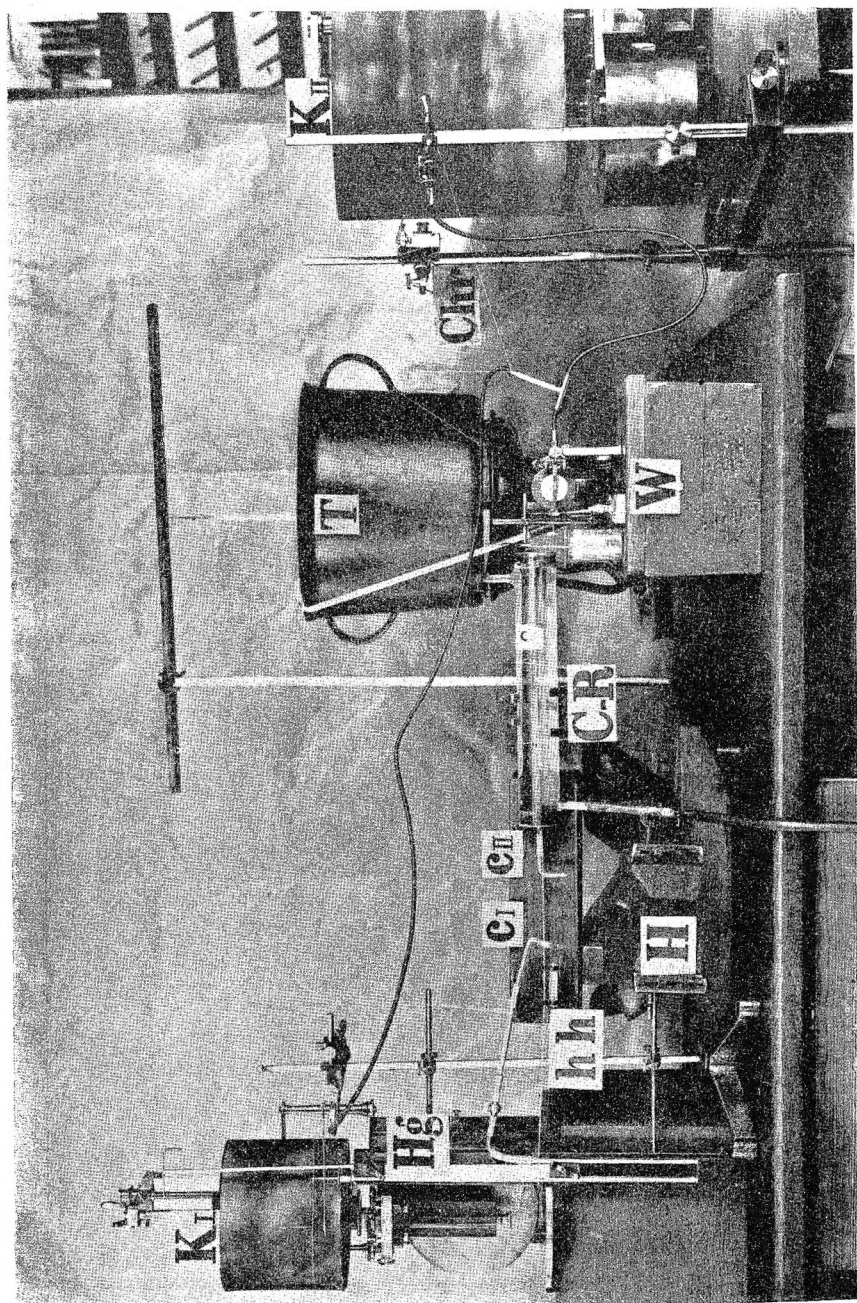


Fig. 37a.

Zum Auffangen des Blutes, sowie zur selbsttätigen Registrierung von Beginn und Ende des Sammelns dient die in Figur 37b und c abgebildete Wippe. Unter dem Ende der Kapillare stehen zwei Gläsern von 5–6 cm³ Höhe nebeneinander, ein Wägegläsern

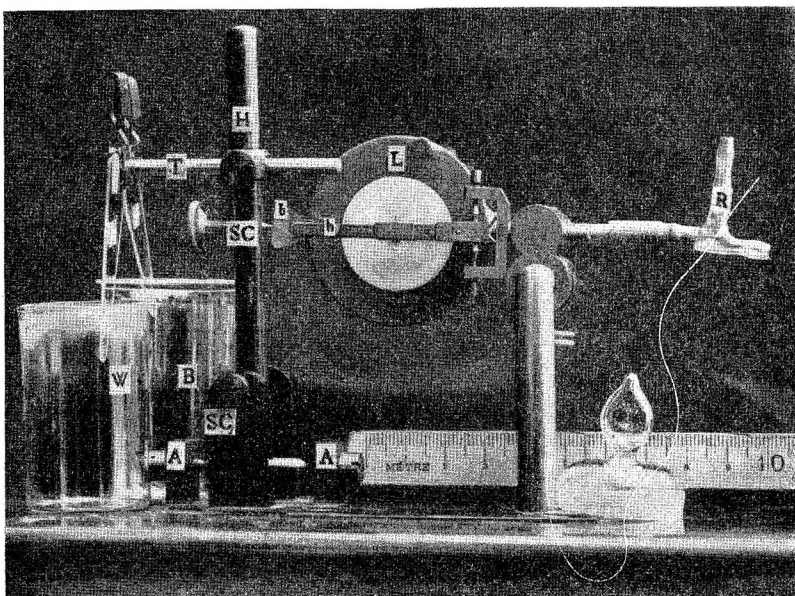


Fig. 37b.

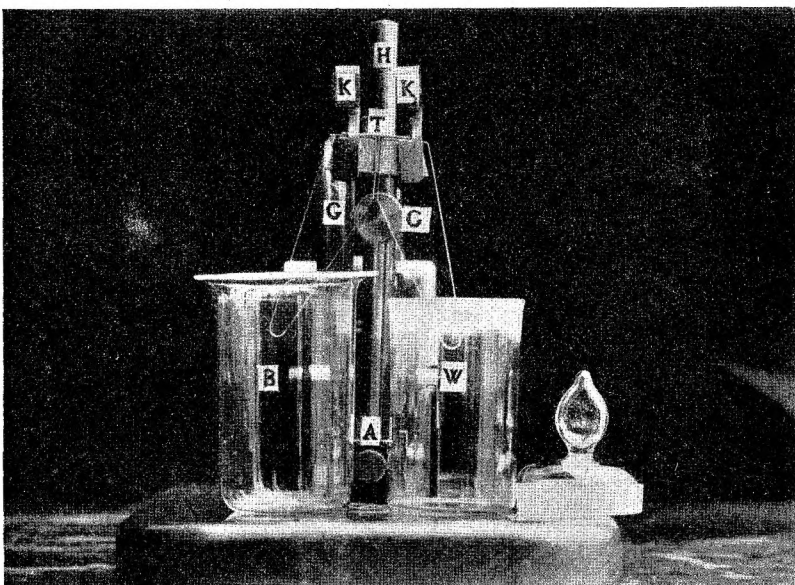


Fig. 37c.

W mit abgenommenem Verschlußdeckel und ein gewöhnliches Bechergläschen B. Aus der Kapillare tropft nun das Blut nicht unmittelbar in eines der Gläschen ab, sondern

fließt an einem der Glasstreifen G oder G entlang, welche senkrecht zur Mündung der Kapillare und $\frac{1}{2}$ bis 1 mm von ihr entfernt angebracht sind, und zwar in solcher Höhe, daß die Verlängerung der Kapillare die Glasstreifen im oberen Drittel trifft. Um nun das Blut nach Belieben in das Gläschen B oder W zu leiten, sind die Glasstreifen in eine zur Röhrenachse senkrechten Ebene verschieblich; sie werden durch kleine Klammern K und K an dem Träger T festgehalten, der selbst wieder in dem Hebel H festgeschraubt wird. Der letztere kann durch Fingerdruck um die der Glaskapillare parallele Achse AA umgelegt werden. (SC in Fig. 37b ist eine Hemmung). Je nach der Stellung des Hebels fließt das Blut entweder in das Bechergläschen B oder in das Gläschen W. Um zu verhindern, daß bei der Umlegung des Hebels eine Flüssigkeitsbrücke zwischen den beiden Streifen entsteht, sind diese an der einander zugewandten Kante mit einer Paraffinhaut überzogen. Um die Ausflußzeit, d. h. Zeit, während welcher Blut in das Wägegläschen W fließt zu messen, wird das Umlegen der Wippe durch Lufttransport vermittelt der in Figur 37b abgebildeten Luftkapsel auf ein sehr rasch gehendes Kymographion übertragen, gleichzeitig vermittelt eines T Rohres auf das langsamer gehende Kymographion, welches den Blutdruck registriert. Bei Ausflußzeit kann bis auf $\frac{1}{100}$ Sekunde genau vermittelt der Wippe gemessen werden. Die Ausflußmenge wird, wegen ihrer Kleinheit, durch Wägung bestimmt und das Volumen mit Hilfe des spezifischen Gewichtes berechnet. Das hierzu benutzte kleine Pyknometer wird vor dem Auffangen des Blutes auf 37° erwärmt und mit Blut aus der Arterie gefüllt und verschlossen, während es in Wasser von genannter Temperatur versenkt wird. Der Druck, unter welchem das Blut durch die Kapillare strömt, wird mit Hilfe eines stark gedämpften Quecksilbermanometers registriert. Der zur Bestimmung des Mitteldrucks dienende Teil der Kurve, welcher im Zeitraum des Auffangens von Blut aus der Kapillare registriert wird, wird wie oben beschrieben, mit Hilfe Lufttransportes markiert. Der Nullpunkt des Quecksilbermanometers und das Lumen der Kapillare müssen hierbei auf gleicher Höhe liegen. Die zur Durchströmung dienende Kapillare wird mit der Karotis durch eine rechtwinklig gebogene Glaskanüle verbunden; Kapillare und Kanüle müssen möglichst aneinander stoßen. Die Kanüle muß so geformt sein, daß sie an keiner Stelle ihres Lumens eine plötzliche und starke Erweiterung oder Verengung hat, damit keine Luftbläschen sitzen bleiben. Die Kanüle muß bei Beginn des Versuchs ganz frei von Gerinnseln sein. Die Kapillare wird von einem Glasmantel umgeben, der durch Wasserdurchströmung auf $\frac{1}{2}^{\circ}$ über der Körpertemperatur des Tieres erhalten wird. Die Kapillare wird wasserdicht, aber leicht entfernbar in den Wassermantel eingesetzt, da unmittelbar nach Beendigung eines Versuchs die Kapillare entfernt und gereinigt werden muß.

Wenn alles zum Versuch fertig vorbereitet ist, wird die Verbindung der Arterie mit dem Blutdruck K aufschreibenden Manometer hergestellt. Hat sich das Manometer eingestellt, so wird das Kymographion K in Gang gesetzt und die Klemme von demjenigen Gefäß entfernt, das sein Blut durch die Kapillare schickt und in das Gläschen B (Fig. 37c) abtropfen läßt. Während das Blut in die Kanüle einschießt, klopft man einige Male mit dem Finger auf diese oder auf den Glaszylinder, um das Anhaften von kleinen Luftbläschen an der Röhrenwand zu verhindern; sobald die ersten Tropfen Blut aus der Kapillare fließen, wird das Kymographion K II in Gang gesetzt, und eine oder einige Sekunden darauf legt der Experimentator den Hebel der Wippe W um, wodurch das Wägegläschen W eingeschaltet und Marken an den beiden Kymographien erzeugt werden. Wenn die Papierschleife des Kymographion K II ihrem Ende nahe ist, wird die Wippe zum zweiten Male umgelegt und die beiden Kymographien werden von Gehilfen arretiert. Rasch hintereinander sind noch folgende Manipulationen auszuführen. Der Glasstreifen G, (Fig. 37c) wird durch Lüften der Klammer K, in das Wägegläschen gelegt, dieses mit Deckel verschlossen und in Sicherheit gebracht. Die beiden Arterien werden durch Klemmen geschlossen und der die Kapillare umgebende Glaszylinder wird entleert. Die mit der Kapillare verbundene Kanüle wird aus der betreffenden Arterie entfernt, die Kapillare aus dem Zylinder gezogen und mit einer in einer Pipette bereit gehaltenen 1% Sodaaflösung und darauf mit destilliertem Wasser, Alkohol und Äther durchspült und durch einen warmen Luftstrom getrocknet.

Aus dem Gewicht des gesammelten Blutes und des mit Hilfe des spezifischen Gewichtes berechneten Volums, dem mittleren Blutdruck, der Ausflußzeit und den Dimen-

sionen der beim Versuch verwendeten Kapillare läßt sich der Koeffizient K , welcher der Viskosität der Flüssigkeit umgekehrt proportional ist, berechnen.

$$\text{Es ist } Q = K \frac{d^4 h}{l}$$

wo Q die in der Zeiteinheit ausfließende Menge, d der Durchmesser, l die Länge der Röhre und h die Druckhöhe bedeutet.

Hürthle hat die Methode einer eingehenden Experimentalkritik in ihren einzelnen in Betracht kommenden Punkten unterworfen und ihre Brauchbarkeit erwiesen.

Teil IX. Bestimmung der Oberflächenspannung und Kapillarität.

Prinzip und Allgemeines. Die freie Oberfläche von Flüssigkeiten ist Sitz einer Energie. Die Zunahme, welche diese Energie bei einer Vergrößerung der Oberfläche um die Einheit erfährt oder die Energie der Flächeneinheit wird als Oberflächenspannung H bezeichnet. Die Größe H ist für jede Flüssigkeit bei bestimmter Temperatur eine Konstante. Sie steht in naher Beziehung zu dem Steigen von Flüssigkeiten in Kapillarröhren und wird mit Rücksicht hierauf Kapillaritätskonstante α genannt. Die Kapillarkonstante wird auch definiert als das Flüssigkeitsgewicht, welches von der Längeneinheit der Berührungslinie der Oberfläche mit einer vollkommen benetzten Wand getragen wird. Die Oberflächenspannung beeinflusst die Form, welche Flüssigkeiten annehmen, und bei der Berührung von verschiedenen Flüssigkeiten ist die Größe der resultierenden Oberflächenspannung bestimmend für die Erscheinungen der Ausbreitung. Diese Beziehungen verleihen der Oberflächenspannung und der Kapillarität Bedeutung in der Physiologie.

Zur Bestimmung der Oberflächenspannung sind in der Physik eine Reihe von Methoden gebräuchlich. Die einfachste ist die Bestimmung durch die Steighöhe in Kapillaren. Wenn ein Kapillarrohr vom Radius r in eine das Glas vollkommen benetzende Flüssigkeit von dem spezif. Gewicht s taucht, so steigt die Flüssigkeit darin über den Spiegel der umgebenden Flüssigkeit empor. Ist h diese Steighöhe, so wird auf diese Weise von den Kapillarkräften ein Flüssigkeitsgewicht $h \pi r^2 s$ über dem Flüssigkeitsniveau gehalten. Die Länge des Röhrenumfanges ist $2 \pi r$, also ist das von der Längeneinheit der Glasfläche getragene Gewicht.

$$\alpha = \frac{h \pi r^2 s}{2 \pi r} = \frac{1}{2} h r s$$

Um die Messung auszuführen, bedarf man einer kreiszylindrischen Kapillare, welche sehr sorgfältig gereinigt sein muß, insbesondere dürfen keine Spuren von Fett die Röhren verunreinigen, weil sonst keine vollkommene Benetzung eintritt. Eine Hauptschwierigkeit besteht gerade darin, daß Wasser sehr leicht Spuren von Verunreinigung, namentlich Fett, erhält. Die Kapillare wird genau lotrecht in ein größeres Gefäß eingetaucht, welches durch Stellschrauben horizontal nivelliert werden kann. Die Höhe des Aufstiegs über dem Flüssigkeitsniveau im größeren Gefäß wird mit einem Kathetometer abgelesen. Ehe die Messung geschieht, wird, um die Benetzung zu sichern, entweder die Kapillare tiefer als der Steighöhe entspricht in die Flüssigkeit versenkt oder die letztere aufgesogen. Die Temperatur wird

notiert. Die Kapillarröhre wird nach dem Versuch gereinigt und getrocknet und der Durchmesser entweder durch Calibrieren mit Quecksilber oder Messung eines glatt und kurz abgeschnittenen Stückes unter dem Mikroskop bestimmt. Schließlich ist noch das spezifische Gewicht zu ermitteln.

Wegen der anderen in der Physik gebräuchlichen Methoden wird auf die praktische Physik von Kohlrausch verwiesen. Zu Zwecken physiologischer Probleme sind die folgenden Methoden verwandt worden.

1. Methode von Fano und Mayer.

Diese Methode, welche für alle möglichen tierischen Flüssigkeiten anwendbar ist, beruht nach einem von Whatmough stammenden Prinzip darauf, daß nicht die Steighöhe in kapillarer Röhre, sondern der Druck bestimmt wird, der erforderlich ist, um die infolge der Kapillarität aufgestiegene Flüssigkeit wieder in Niveauhöhe zurückzudrängen.

Der Apparat (Fig. 38) ist konstruiert aus einem Wasserbad A von 1—1½ Liter Rauminhalt, in welches eintauchen: 1. ein ungefähr 5 cm langes Reagensrohr B, welches die zu untersuchende Flüssigkeit enthält; 2. ein Baudinthermometer in Zehntel Grad geteilt C; 3. ein Wärmeregulator Reichert D, und 4. einen Schaumrührer E. Der Hauptteil wird durch einen Druckapparat dargestellt, welcher aus einem kleinen Glasrezipienten F gebildet ist, welcher Wasser enthält und an welchen ein langer Gummischlauch befestigt ist, um in G an eine Einrichtung von Glasröhren anzuschließen, welche einen Hahn H, ein Petroleummanometer K mit in Tausendstel geteilter Skala und ein kurzes Rohr M enthält, an welches, vermittelt eines kleinen Gummischlauches, sich die zylindrischen Kapillaren N, welche in die in B enthaltene Flüssigkeit tauchen, mitsamt einem kleinen Glasrührer O anschließen; hierzu kommt ein in der Luft befindliches Thermometer L.

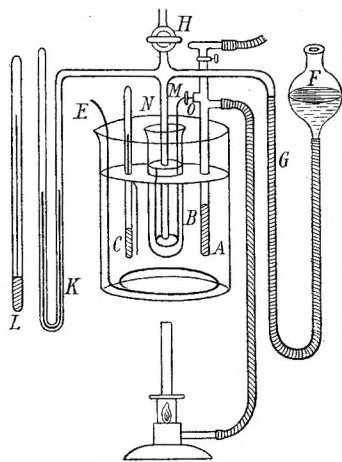


Fig. 38.

Will man eine Bestimmung ausführen, so senkt man eine Kapillare ein, welche einige Millimeter in die Flüssigkeit taucht; man schließt den Hahn H und hebt die Kugel F auf, bis der ausgeübte Druck, den man in jedem Augenblick am Manometer ablesen kann, derartig ist, um die Flüssigkeitssäule, welche in der Röhre aufgestiegen ist, auf das Niveau der in dem Reagensrohr enthaltenen Flüssigkeit zurückzuführen. Man läßt natürlich die beiden unteren Menisken übereinstimmen, und nachdem man eine bestimmte Zeit gewartet hat, bis der Meniskus der Kapillare stationär bleibt, liest man die Angabe des Manometers ab. Dieses ist mit bis auf 200° gekochtem Petroleum angefüllt, um die nachfolgende Verdampfung auszuschließen; die Entfernung des Bades vom Manometer ist derart, daß dieses nicht von den starken Ungleichheiten zwischen der Temperatur, bei welcher man arbeitet, und derjenigen des Raumes affiziert wird.

Alle Rezipienten, welche Versuchsflüssigkeiten enthalten, die Rührer, die Pipetten usw. bringt man in einer Chrommischung zum kochen, dann bringt man sie unter einen kontinuierlichen Strahl gewöhnlichen Wassers; dann wäscht man sie mit fließendem, destillierten Wasser; bisweilen entfernt man aus den Röhren, den Pipetten usw. die übriggebliebene Chrommischung direkt mit einem starken Dampfstrahl. Alles wird in einem Luftofen bis zu 150° getrocknet. Es wird nie Alkohol noch Äther angewandt.

Die sehr feinen Kapillaren werden sofort nach der Herstellung in die Chrommischung eingetaucht, welche zum Kochen gebracht wird. Sofort danach läßt man zweimal einen Dampfstrahl hindurchgehen, wobei man die beiden Enden der Dampfquelle nähert. Um die außen gebliebenen Chromsalzspuren zu entfernen, wäscht man sie im fließenden, destillierten Wasser; hierauf läßt man wieder den Dampf durchgehen, und vermittels besonderer Vorrichtungen werden sie an einen Aspirator angeschlossen, durch welchen sie mit einem heißen Luftstrom ausgetrocknet werden. Den äußeren Rand einer der Enden schmilzt man an der Flamme, um die Eintauchoberfläche regelmäßiger zu gestalten; die Kapillare verschließt man einzeln in Filtrierpapier. Während der Manipulation muß man achtgeben, sie nicht direkt mit der Hand zu berühren, um sie dann an dem richtigen Ende im Augenblick, wo man sich ihrer bedienen will, fassen zu können.

Ist die Kapillare eingetaucht, so saugt man mehrere Male die Flüssigkeit auf und läßt sie sukzessiv wieder sinken. Wenn alles die gewollte Temperatur erreicht hat, geht man zu der Bestimmung über. Es werden immer drei gemacht, wenn auch die Ablesungen unter sich immer identisch sind.

Die Kapillaren werden genau kalibriert, beziehentlich ihr Durchmesser genau bestimmt, wie oben angegeben wurde.

Die Berechnung ergibt sich folgendermaßen. Es ist

$$\pi r^2 h D g = 2 \pi r \alpha \quad (1), \text{ also } \alpha = \frac{1}{2} \frac{\pi r^2 h D g}{\pi r} = \frac{1}{2} r g h,$$

wo h die Verschiebung im Manometer, D das spezifische Gewicht des Petroleums und g die Gravitationskonstante bedeutet.

Die genauere Formel, welche für den Fall gilt, daß die Flüssigkeit das Glas nicht völlig benetzt, sondern einen Randwinkel bildet, lautet

$$\pi r^2 D \left(h + \frac{r}{3} \right) g = \pi r \alpha. \quad (2)$$

Fano und Mayer haben diese Methode mit derjenigen von Guy Lussac verglichen und die gleichen Resultate erhalten.

Anmerkung. Für durchsichtige Flüssigkeiten dürfte sich zur Bestimmung der Kapillaritätskonstante noch mehr die Methode von Cantor eignen, bei welcher die Konstante aus dem Maximaldruck bei der Bildung kleiner Luftblasen bestimmt wird (Cantor, Annalen der Physik. 7. 698. 1902).

2. Die Tropfmethode von Traube (Stalagmometer).

Der Tropfen, welcher von dem kreisförmigen Querschnitt einer Kapillare mit dem Durchmesser r getragen wird, wiegt $2 \pi r \alpha$ mg. Man wiegt eine gezählte Menge von Tropfen und ermittelt daraus das Gewicht eines Tropfens.

Dann ist $\alpha = \frac{m}{2 r \pi}$.

Traube hat für die Anwendung der Tropfmethode sein Stalagmometer konstruiert, welches gleichzeitig auch zu Viskositätsmessungen brauchbar ist (Fig. 39). Mit dem Stalagmometer sind eine große Reihe von tierischen Flüssigkeiten untersucht worden.

Das Stalagmometer A besteht aus einem zweimal knieförmig gebogenem Rohre, dessen oberer Schenkel sich zu einer Kugel erweitert, durch welche ein bestimmtes, durch zwei Marken b und c abgegrenztes Volumen v von 6—8 cm Inhalt abgeteilt wird. Der mittlere und untere Schenkel des Rohres wird durch eine Kapillarröhre gebildet, deren äußerer Durchmesser 6—8 mm

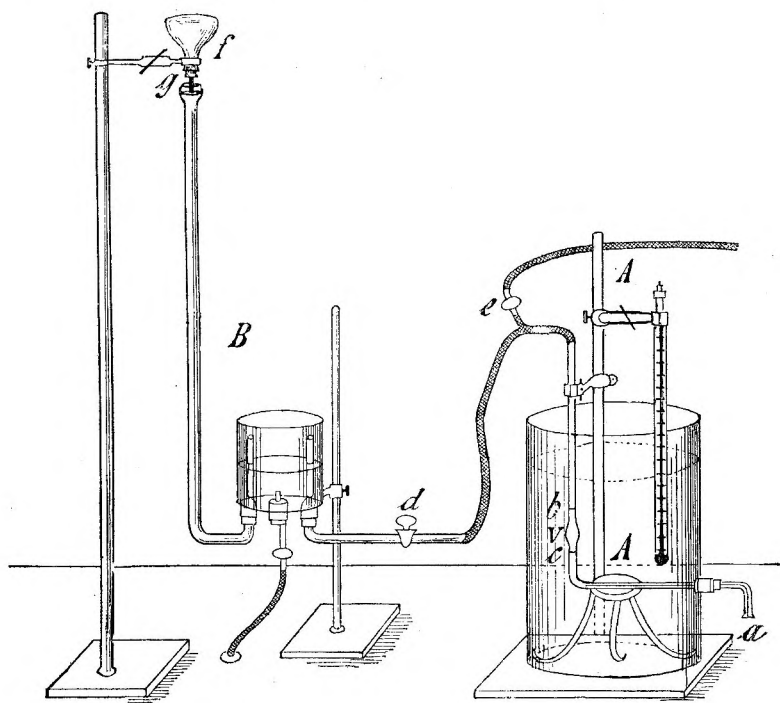


Fig. 39.

beträgt, während der innere Durchmesser so gewählt wird, daß die Bildungszeit eines Tropfens wenigstens vier bis fünf Sekunden beträgt. Die Abtropffläche a muß gut abgeschliffen sein. Zum Schutz gegen ein Heraufziehen der Flüssigkeit sind die Seitenflächen entweder konisch abgeschliffen oder werden vorsichtig gefettet. Der Teil B stellt den Druckapparat dar. In der umgekehrt aufgestellten dreifach tubulierten Wulfschen Flasche wird Druck durch das Steigrohr erzeugt, welches von der Flasche f her auf konstanter Niveauhöhe erhalten wird. Von e her kann die Flüssigkeit in das Stalagmometer aufgesaugt werden.

Bei dem Traubeschen Apparat werden nicht die Tropfen gewogen, sondern die Zahl der Tropfen gezählt, welche in dem Volum v zwischen den Marken b und c enthalten sind. Man saugt die Flüssigkeit staubfrei bis über die Marke b , stellt die Verbindung mit dem Druckapparat her und zählt, während der untere Meniskusrand der Flüssigkeit von b nach v passiert. Der Ausfluß soll im Tempo von etwa ein Tropfen in 5 Sekunden erfolgen; dementsprechend ist der Druck zu regulieren; doch kann auch bei gleicher Druckhöhe mit einem Fehler von 1—2 Proz. gearbeitet werden.

Für die Berechnung gilt die Formel $\alpha_r \cos \vartheta_r = 7.45 \frac{z_{wsr}}{z_{rsr}}$, wo z_w und z_r die im Volumen v enthaltenen Tropfenzahlen von Wasser und einer anderen untersuchten Flüssigkeit und s_w und s_r die beiden betreffenden spezifischen Gewichte sind. Es wird nicht α , sondern der mit dem Kosinus des Randwinkels multiplizierte Gesamtausdruck gefunden (wegen der unvollkommenen Benetzung).

Eine genauere Kritik des Stalagmometers steht noch aus. Traube selbst gibt an, daß z. B. die Oberflächenspannung des Speichels mit dem Apparate nicht genau zu bestimmen sei.

Teil X. Bestimmung des Brechungskoeffizienten von Flüssigkeiten (Refraktometrie).

Prinzip und Allgemeines. Der Brechungskoeffizient einer Flüssigkeit hängt ab 1. von der Natur der enthaltenen Elemente, 2. von der Menge der enthaltenen Elemente, 3. von der Art der Verkettung der Atome, 4. vom Licht, 5. von der Temperatur. Der dritte Punkt kann hier außer Betracht bleiben, der vierte und fünfte kann konstant erhalten werden. Die Bestimmung des Brechungskoeffizienten wird dann von Wert sein, wenn es sich um eine in der Flüssigkeit vorhandenen Substanz von großer spezifischer Brechkraft handelt, die entweder allein vorhanden ist oder neben welcher andere in der gleichen Flüssigkeit befindliche Substanzen nur einen geringen Einfluß auf die Brechkraft besitzen. Praktisch wird der Brechungskoeffizient im Verhältnis zu atmosphärischer Luft bestimmt. Die gebräuchlichste Methode zur Ermittlung des Brechungskoeffizienten von Flüssigkeiten bedient sich der totalen Reflexion oder des streifenden Eintritts von Licht, was auf dasselbe hinausläuft. Erstere kommt in dem Refraktometer von Abbé, letztere in demjenigen von Pulfrich zur Anwendung.

Wenn J der Grenzwinkel der totalen Reflexion ist, so gilt $\sin J = \frac{1}{n}$ woraus n gefunden wird.

1. Abbés Refraktometer.

Zwei rechtwinklige Prismen aus Glas von hohem Brechungsexponent, beide ganz gleich geschliffen, sind mit ihren Hypotenusenflächen aneinander gelegt. Zwischen beiden Prismen ist ein Raum gelassen, der mit der zu untersuchenden Flüssigkeit angefüllt wird. Licht, welches auf die untere Fläche der Prismenkombination fällt, wird so gebrochen, daß es das ganze

System wieder aus der oberen Fläche parallel seiner früheren Richtung verläßt. Das Licht wird bei seinem Austritt aus dieser oberen Fläche durch ein feststehendes Fernrohr beobachtet. Die Prismenkombination kann um die senkrecht zur Fernrohrachse stehende Achse gedreht werden. Der durch einen Spiegel in die Richtung der Fernrohrachse gelenkte Strahl wird bei der Drehung der Prismen unter verschiedener Neigung auf die Flüssigkeitsschicht treffen. Kommt das Prismensystem bei der Drehung in die Stellung, bei welcher der in der Achsenrichtung verlaufende Strahl grade den Grenzwinkel der Totalreflexion mit der Flüssigkeitsschicht bildet, so wird das Ge-

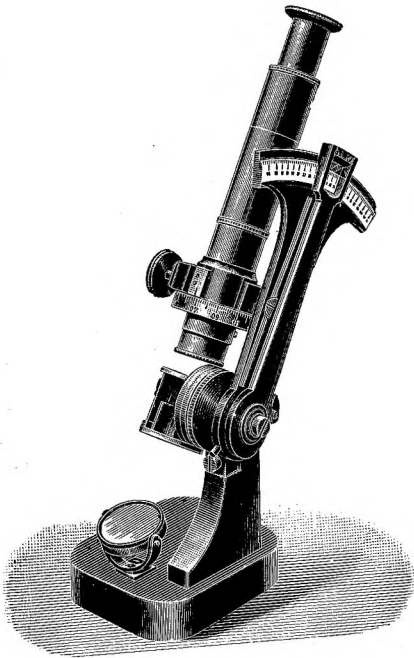


Fig. 40a.

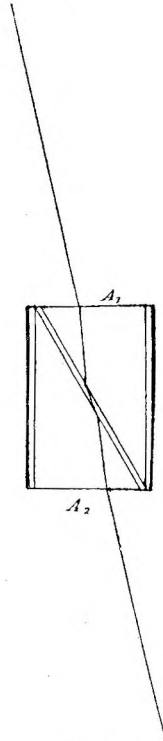


Fig. 40b.

sichtsfeld des Fernrohrs in eine obere und untere Hälfte geteilt, von denen die eine alle Strahlen erhält, welche unter kleinerem, die andere alle diejenigen aufnimmt, welche unter größerem Winkel auf die Flüssigkeitsschicht auffallen. Die letzteren werden sämtlich total reflektiert. Die Grenze zwischen Hell und Dunkel bildet eine Linie, welche bei richtig justiertem Instrument durch den Schnittpunkt des Fadenkreuzes im Fernrohrkular geht. Da man mit Tageslicht arbeitet, ist wegen der verschiedenen Brechbarkeit der einzelnen Strahlen die Grenzlinie ein farbiger Saum. Um diesen Saum zu beiseitigen, ist zwischen Prismenkombination und Fernrohr ein aus Prismen zusammengesetzter Kompensator eingeschaltet. Durch Drehung desselben hebt man die Farbenzerstreuung auf. An dem Kompensator ist eine Teilung an-

gebracht; die Zahlen desselben geben mit Hilfe einer dem Instrument beigegebenen Tabelle die Dispersion Δ zwischen den Linien D und F. Die untere drehbare Prismenkombination ist an einer Alhidade, die oben einen Index trägt, befestigt; der Index geht an einer Teilung vorbei, welcher den Brechungsindex für das mittlere Gelb direkt ablesen läßt.

2. Das Eintauchrefraktometer von Pulfrich.

Bei weitem das zu physikalisch-chemischen Messungen am meisten verwandte Instrument ist das Refraktometer von Pulfrich. Es existieren mehrere Formen. Zu physiologischen Zwecken ist das als Eintauchrefraktometer be-

zeichnete Instrument das geeignetste, namentlich mit der von Reiß angegebenen Modifikation.

Das wesentliche an dem Apparat (Fig. 41 a) ist ein Prisma, welches direkt in die Flüssigkeit eintaucht, welche sich in einem auf $17,5^{\circ}$ temperierten Bechergläschen befindet oder, nach Reiß' Angaben, wenn man nur Tropfen von Flüssigkeit zur Verfügung hat, dem ein zweites Hilfsprisma aufgesetzt ist. Zwischen den beiden Prismen wird der Flüssigkeitstropfen angebracht. Das Hilfsprisma hat eine Fassung, die genau in das Becherglas hineinpaßt (Reiß). Das Becherglas ist wasserdicht abschließbar. Das Becherglas befindet sich in einem Temperierbad. Die Firma Zeiß liefert u. a. eine sehr praktische Einrichtung von Löwe (Fig. 41 b). In dem mit dem Prisma unver-

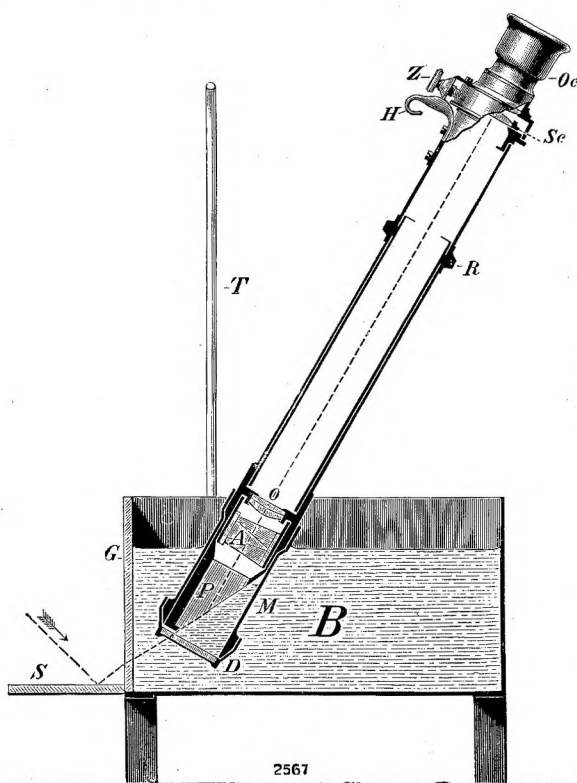


Fig. 41 a.

Fernrohr befindet sich in dem Okular eine Skala. Der Grenzwinkel der schiefen Inzidenz markiert sich auf der Skala in Gestalt einer Schattengrenzlinie. Entsprechend der Größe dieses Winkels, also entsprechend der Ablenkung, welche die Lichtstrahlen durch verschiedenartige Flüssigkeiten erfahren, erscheint die Schattengrenzlinie an verschiedenen Stellen des durch die Skala in 100 Teile eingeteilten Gesichtsfelds. Diese Grenzlinie zwischen hell und dunkel muß noch durch Drehung eines Kompensators, welcher oberhalb des Prismas in das Fernrohr eingesetzt ist, zu einer

farblosen scharfen Trennungslinie gemacht werden. Die ganzen Skalenteile werden abgelesen und notiert. Zur Ermittlung der Zehntelskalenteile dient eine Mikrometerschraube. Durch Drehen an dieser verschiebt man die Skala gegen die Grenzlinie, bis der vorher notierte Skalenteil sich mit der Grenze deckt. Der Index der Mikrometertrommel zeigt alsdann die Zehntelskalenteile an, die zu den Ganzen noch hinzuzufügen sind. Die Skala des Refraktometers ist so eingerichtet, daß bei einer Temperatur von $17,5^{\circ}\text{C}$. die Schattengrenzlinie des destillierten Wassers genau auf dem Teilstrich 15 steht. Die Grade der Skala werden nach einer dem Apparat beigegebenen Tabelle direkt in den Brechungskoeffizienten umgerechnet. Justiert wird der Apparat mit Hilfe von destilliertem Wasser.

Das Arbeiten mit dem Eintauchrefraktometer ist ein sehr bequemes und der Apparat ist von großer Empfindlichkeit. Darin liegt sowohl ein Vorzug, wie auch ein Nachteil; denn sehr geringe Abweichungen der Temperatur, sowie geringfügige Substanzbeimengungen, welche nicht Gegenstand der Untersuchung sind, können eventuell schon merkliche Ausschläge bedingen.

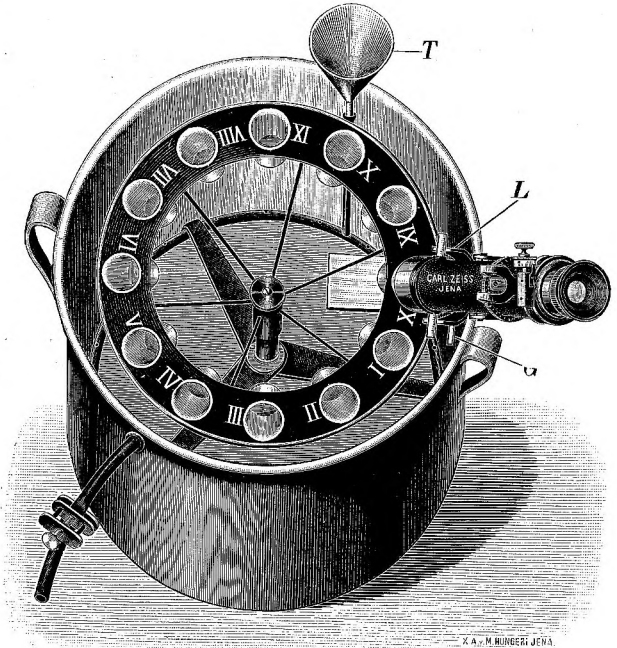


Fig. 41b.

3. Physiologische Anwendungen.

Bestimmung des Eiweißgehaltes von Blutserum und anderen serösen Flüssigkeiten (Reiß).

Reiß hat die Refraktometrie zu einer sehr genauen Methode der Eiweißbestimmung im Blutserum und in Exsudaten ausgearbeitet. Das Blutserum enthält durchschnittlich über 8 Proz. Eiweiß und etwas über 1 Proz. andere Bestandteile. Nur das Kochsalz bricht die Lichtstrahlen ebenso stark wie Eiweiß, alle anderen Serumbestandteile haben eine geringere Lichtbrechung. Unter der Voraussetzung, daß der Gehalt an Kochsalz und den anderen Bestandteilen nur geringe Schwankungen erleidet — aber nur unter dieser Voraussetzung, welche am besten experimentell zu verifizieren ist — ist es möglich aus der Größe der Lichtbrechung des Blutserums auf seinen Eiweißgehalt zu schließen. Nach Reiß beträgt der Brechungskoeffizient für 1 Proz. Serumeiweiß 0,00172

für die Nichteiweißkörper des Serums 0,00277. Man wird daher vom Brechungskoeffizienten des Serums den Anteil der Nichteiweißkörper = 0,00277 und den Brechungsindex des destillierten Wassers = 1,33320 abziehen und den Rest durch 0,00172 dividieren, um den Prozentgehalt an Eiweiß zu erfahren. Reiß hat zur Erleichterung die folgende Tabelle angegeben.

Um die Tabelle auch für andere Refraktometer brauchbar zu machen, sind die entsprechenden Werte des Brechungskoeffizienten beigegeben.

Tabelle von Reiß zur direkten Umrechnung der Skalenteile des Eintauchrefraktometers bei 17,5° C in Eiweißprozenten.

Berechnungsindizes zu nebenstehenden Skalenteilen	Blutserum			Ex- und Transsudate		
	npf. destilliertes Wasser 1,33320			npf. destilliertes Wasser 1,33320		
	npf. die Nichteiweißkörp. 0,00277			npf. die Nichteiweißkörp. 0,00244		
	npf. 1 Proz. Eiweiß 0,00172			npf. 1 Proz. Eiweiß 0,00184		
	Skalen- teil	Eiweiß in Proz.	Diff. v Ei- weiß f. 1 Skalen- teil	Skalen- teil	Eiweiß in Proz.	Diff. v Ei- weiß f. 1 Skalen- teil
1,33590	22			22	0,14	
1,33628	23			23	0,35	0,210
1,33667	24			24	0,56	0,210
1,33705	25	0,63		25	0,77	
1,33896	30	1,74	0,220	30	1,80	0,206
1,34086	35	2,84	0,220	35	2,83	0,206
1,34275	40	3,94	0,218	40	3,86	0,206
1,34463	45	5,03	0,218	45	4,89	0,202
1,34650	50	6,12	0,216	50	5,90	0,202
1,34836	55	7,20	0,216	55	6,91	0,202
1,35021	60	8,28	0,214	60	7,92	0,200
1,35205	65	9,35	0,212	65	8,92	0,198
1,35388	70	10,41		70	9,91	

In gewissen Fällen kann man den mit Hilfe des Refraktometers gefundenen Eiweißwert einer Flüssigkeit dadurch klarzustellen suchen, daß man den Brechungskoeffizienten nach Entfernung des Eiweiß wiederholt bestimmt. Bedingung aber ist 1. daß man quantitativ die letzten Spuren von Eiweiß entfernt, 2. daß man bei der zweiten Bestimmung nichts in die Flüssigkeit vom Fällungsprozeß hineinbekommt.

Insofern man mit Tropfen von Flüssigkeit auskommt, ist die refraktometrische Methode allen anderen überlegen, aber ihre Empfindlichkeit fordert zur Vorsicht auf. Nach eigenen Bestimmungen ist der Einfluß geringer Verdünnungen oder geringen Salzzusatzes durch folgende Zahlen gekennzeichnet: 3 cm³ Serum + 0,2 cm³ 0,9% NaCl gefunden 7,1784% Eiweiß, berechnet (aus quantitativer Bestimmung größere Mengen) 7,2125%, 3 cm³ Serum + 0,2 aqu. dest. gefunden 7,0056% Eiweiß, berechnet 7,2125%

Methode von Bence zur refraktometrischen Bestimmung des Blutkörperchenvolums.

Bence hat sich der refraktometrischen Methode zur Bestimmung des Blutkörperchenvolums in geringen Blutmengen bedient. Das Prinzip ist folgendes:

Es sei „S“ die Menge eines beliebigen Serums, „R“ dessen Refraktationsindex, „K“ die Menge einer 0,9%igen Kochsalzlösung, deren Refraktationsindex bei 18°C 1.3342 beträgt, wenn der des Wassers 1.3328 ist. Wird nun „S“ mit „K“ vermennt, so liegt der Refraktationsindex des Gemisches zwischen 1.3342 und „R“. Derselbe betrage „Rx“. Es ist $S(R - 1.3328) + K(1.3342 - 1.3328) = S + K(Rx - 1.3328)$.

Sind R , K , Rx bekannt, kann S folglich berechnet werden:

$$S = \frac{K(Rx - 1.3342)}{R - Rx}$$

Wird also 100 Teilen Blut eine bekannte Menge, 0,9%iger Kochsalzlösung zugesetzt, so kann die in 100 Teilen Blut enthaltene Serummenge berechnet werden, sobald R und Rx ebenfalls bekannt sind.

Man kann mit dieser Methode mit ganz kleinen Mengen arbeiten, wenn das Blut in kleinen kalibrierten Kapillaren, in denen auch die Zumischung von Kochsalz stattfindet, aufgefangen wird.

Die Kontrolle dieser Methode an größeren Mengen mit anderen gleichfalls das Blutkörperchenvolum bestimmende Methoden ergab übereinstimmende Werte.

Anwendbarkeit der refraktometrischen Methode für andere Flüssigkeiten. Die Methode ist auch für Harn angewandt worden, im ganzen mit wenig Erfolg. Bis jetzt beschränkt sich die Brauchbarkeit der refraktometrischen Methode nur auf Lösungen, die nur eine einzige gelöste Substanz enthalten und auf solche Körperflüssigkeiten, bei denen der verschiedene Eiweißgehalt oder eventuell eine einzelne andere Substanz die einzige in Betracht kommende Variable darstellt. Ob das letztere zutrifft, muß aus den Bedingungen des betreffenden Versuches gesondert erkannt werden.

Literatur.

Literatur zu allen Teilen.

- Kohlrausch, Lehrbuch der praktischen Physik. 10. Aufl. 1905.
 Ostwald-Luther, Physiko-chemische Messungen. 2. Aufl. 1902.
 Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre. Bd. 1—3. 1902—1904.
 Bottazzi, Principii di Fisiologia. Vol. I. Elementi di chimica fisica. 1906.
 Höber, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 2. Aufl. 1906.

Teil I.

- Roth, Arch. für Anat. u. Physiol. 1899. S. 416.
 Hamburger, Osmot. Druck und Ionenlehre. Bd. II. S. 92.
 v. Lesser, Arch. f. Physiol. 1878.

Teil II.

- Hamburger, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1893. S. 151.
 Hamburger, Osmot. Druck und Ionenlehre. Bd. I. S. 515.
 Freund, Wiener med. Jahrbücher. 1886. S. 46.
 Franz, Arch. f. experiment. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 49.
 Arthus u. Pagès, Archives de Physiol. (5.) 2; Compt. rend. 112.
 Arthus, Journal de Physiol. et Pathol. 3 u. 4.

- Morokhowetz, Le Physiologiste Russe. Vol. III. 1903/1904.
 Rossi, Arch. di Fisiologia II. 1905. S. 638.
 Michaelis und Rona, Biochemische Zeitschrift. Bd. II. 1907. S. 219.
 Martin, Journal of Physiol. Vol. XX. S. 364.
 Bechhold, Biochem. Zeitschrift 1907, S. 379.
 Graham, Phil. Transactions 1861; Liebigs Annalen 121. 1862.
 Kronecker, Festschrift für Ludwig 1873.
 Huizinga, Pflügers Arch. Bd. XI. 1875.
 Waymouth Reid, Journal of Physiol. XXI. 1897.
 Siegfried, Ber. d. deutschen chem. Gesellschaft. XXXI. 1898. S. 1825.
 Philippson, Hofmeisters Beiträge. Bd. 1. 1902.
 Spiro, Hofmeisters Beiträge. V. 1904.
 Gürber, Sitzungsber. d. med. physik. Gesellschaft zu Würzburg. 1875.
 Loewy und Zuntz, Pflügers Arch. Bd. 58. 1894.
 Arthus, Zeitschr. f. Biologie. N. F. 16. 1896.
 Asher und Rosenfeld, Biochem. Zeitschrift. Bd. III. 1907.
 Schenck, Pflügers Arch. Bd. 47. 1890.

Teil III.

- Roy, Proc. Physiol. Society 1884. Journ. of Physiology. 1884.
 Hammerschlag, Zeitschr. f. klin. Medizin. XX. 1892, Ibid. XXI. 1892.
 Eykman, Virchows Arch. CXLIII 1896.
 Schmalz, Arch. f. klin. Medizin 47. 1890.
 Bleibtreu, Pflügers Arch. 51, 1892.
 Bleibtreu, Pflügers Arch. 55, 1893.
 Eykman, Pflügers Arch. 60, 1895.
 Hamburger, Zeitschr. f. Biol. 1897.
 Golowin, Gräfes Archiv f. Ophthalm. Bd. XLIX, 1900.
 Lazarus Barlow, Philos. Transact. of the Royal Soc. Vol 185. B. 1894.

Teil IV. Abteilung 1.

- Pfeffer, Osmotische Untersuchungen. Leipzig 1877.
 Morse u. Horn, Am. Chem. Journ. Vol. XXVI. 1901.
 Tammann, Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. X. 1892.
 Walden, Zeitschr. f. physik. Chemie Bd. X. 1892.
 Starling, Journ. of Physiol. Vol. XXIV. 1899.
 Moore u. Parker, Amer. Journ. of Physiol. Vol. VII. 1902.
 Moore u. Roaf, Biochemical Journ. Vol. II. 1906.
 Oker-Blom, Skand. Arch. f. Physiol. Bd. 15. 1903.

Abteilung 2.

- Hamburger, Osmot. Druck- u. Ionenlehre. Bd. I. S. 63.
 Beckmann, Zeitschr. f. physik. Chemie 2, 1888.
 Beckmann, Zeitschr. f. physik. Chemie Bd. 44. 1903.
 Raoult, Zeitschr. f. physik. Chemie 9. 1892.
 Raoult, Zeitschr. f. physik. Chemie 27. 1898.
 Nernst u. Abegg, Zeitschr. f. physik. Chemie Bd. 15. 1894.
 Dastre, Osmose, Tonometrie, Cryoscopie. Tome I des Traité de Physique Biologique Paris. 1901.
 Ponsot, Bull. Soc. chim. 17. 1897.
 Schoenborn, Gefrierpunkts- und Leitfähigkeitsbestimmungen, Wiesbaden. 1904.
 Cohn, Grenzgebiete der Chirurgie u. inn. Med. 1905.
 v. Koranyi, Die wissenschaft. Grundlagen d. Kryoskopie. Karewskis Bibl., Heft 1. Berlin 1904.
 Claude u. Balthazard, La Cryoscopie des urines 1901.
 Prytz, Annal. d. Physik, Bd. 7. 1902.
 Prytz, Zeitschr. f. phys. Chemie Bd. 47. 1903.
 Dreser, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmak. Bd. 29. 1902.
 Galeotti, Arch. f. Anat. und Phys. 1902.
 v. Rhorer, Pflügers Arch. Bd. 109. 1905.

- Hamburger, Zentralblatt f. Physiol. 1897.
 Hedin, Skand. Arch. f. Physiol. Bd. 5. 1895.
 Strauss, Zeitschr. f. klin. Medizin. Bd. 47. 1902.
 Strauss, Bedeutung d. Kryoskopie f. Nervenkrankungen. Moderne ärztliche Bibliothek 1904.
 v. Koranyi, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 33 u. 34. 1897.
 Sabbatani, Arch. di Fisiologia, IV. 1906.
 Sabbatani, Journal de Physiol. et Pathol. generale III.
 Fredericq, Bulletin de l'Acad. Royale de Med. de Belgique, Bruxelles 1902.

Abteilung 3.

- Friedenthal, Zentralblatt für Physiol. 1903.
 Moore u. Roaf, Thompson Yates u. Johnston Laboratories Report. Vol. VI. 1905.

Abteilung 4.

- Kohlrausch u. Holborn, Das Leitvermögen der Elektrolyte. Leipzig, 1898.
 Kohlrausch, Holborn u. Diesselhorst, Wiedemanns Annalen, 64. 1898.
 Bugarszky u. Tangl, Pflügers Arch. Bd. 72. 1898.
 Ostwald, Zeitschr. f. physik. Chemie Bd. 2. 1888.
 Stewart, Journ. of Physiol. Vol. 24. 1899.
 Oker-Blom, Pflügers Archiv Bd. 79. 1900.

Abteilung 5.

- Bugarszky u. Tangl, Pflügers Arch. Bd. 72. 1898.
 Kohlrausch, Lehrbuch d. prakt. Physik. 10. Aufl. 1905.
 Steyrer, Hofmeisters Beiträge. Bd. II. 1902.
 Bugarszky, Pflügers Arch. 68. 1897.
 Roth, Virchows Arch. Bd. 154. 1890.
 Oker-Blom, Pflügers Arch. Bd. 79. 1900.

Abteilung 6.

- de Vries, Zeitschr. f. physik. Chemie Bd. 2. 1888.
 Overton, Zeitschr. f. physik. Chemie Bd. 12. 1897.
 Hamburger, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1887.
 Hamburger, Zeitschr. f. Biologie Bd. 26. 1889, Bd. 24. 1890.
 Loewi, Arch. f. exp. Pathol. u. Therap. Bd. 53. 1903.
 Hedin, Pflügers Arch. Bd. 60. 1895.
 Hedin, Skand. Arch. f. Physiol. 1895.
 Gryns, Pflügers Arch. Bd. 63. 1896.
 Kottmann, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm. Bd. 54. 1906.
 Hamburger, Biochemische Zeitschrift. Bd. 1. 1906.
 Demoor, Travaux de Laborat. de Physiol. de l'Institut Solvay. T. VII. 1905.

Teil V. Abteilung 1.

- Le Blanc, Lehrbuch d. Elektrochemie. 3. Aufl. Leipzig 1903.
 Nernst, Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. 2. 1888, Bd. 4. 1889.
 Einthoven, Ann. d. Phys. 12. 1903. S. 1059.
 Bugarszky u. Liebermann, Pflügers Arch. Bd. 72. 1898. S. 51.
 Höber, Pflügers Arch. Bd. 81. 1900. S. 522.
 Höber, Pflügers Arch. Bd. 99. 1903. S. 512.
 Höber, Hofmeisters Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. 3. 1903. S. 525.
 v. Rhorer, Pflügers Arch. Bd. 86. 1901. S. 586.
 Farkas, Pflügers Arch. Bd. 98. 1903. S. 551.
 Fraenkel, Pflügers Arch. Bd. 96. 1903. S. 601.
 Bugarszky u. Liebermann, Pflügers Arch. Bd. 72. 1898. S. 51.
 Szili, Pflügers Arch. Bd. 115. 1906. S. 82.
 Foà, Arch. di Fisiologia Vol. III. 1906. S. 369.
 Bjerrum, Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. 53. 1905. S. 428.
 Böttger, Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. 24. 1897. S. 260.
 Dreser, Hofmeisters Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. 8. 1906. S. 285.

Abteilung 2.

- Friedenthal, Zeitschr. f. Elektrochemie. 1904. S. 114.
 Saleßky, Zeitschr. f. Elektrochemie. 1904. S. 204.
 Fels, Zeitschr. f. Elektrochemie. 1904. S. 208.
 Salm, Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. 57. 1906.

Abteilung 3.

- Ostwald, Journal f. prakt. Chemie Bd. 29. 1884. S. 385.
 Ostwald, Zeitschr. f. physik. Chemie Bd. 3. 1889. S. 170, 241 u. 369.
 F. A. Hoffmann, Zentralblatt f. klin. Med. 1889. S. 793.
 F. A. Hoffmann, Schmidts Jahrbücher 233. 1892. S. 268.
 Cohnheim, Zeitschr. f. Biol. Bd. 33. 1896. S. 489.

Teil VI.

- Jungfleisch u. Berthelot, Ann. Chim. et Phys. Vol. 26. 1872. S. 396.
 F. A. Hoffmann u. M. Vollhardt, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 28. 1891. S. 423.
 Spiro, Über physik. u. physiolog. Selektion. Straßburg 1897 (Habilitationsschrift).
 H. Meyer, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 42. 1899. S. 109.
 Baum, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 42. 1899. S. 123.
 Overton, Studien über die Narkose. Jena 1901.

Teil VII.

- Graham, Philos. Transact. London. 1861.
 Graham, Liebigs Annalen. Bd. 121. 1862.
 Fick, Poggendorffs Annalen. Bd. 94, 1855. S. 59.
 Stefan, Ber. d. Wiener Akademie. Bd. 78 u. 79.
 Scheffer, Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. 2. 1888. S. 390.
 Hamburger, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1896. S. 302.
 Hofmeister, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 27. 1890. S. 394.
 Hofmeister, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 28. 1891. S. 210.
 Pauli, Pflügers Archiv. Bd. 71. 1898. S. 333.
 K. Meyer, Hofmeisters Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol. Bd. 7. 1905. S. 393.
 Bechhold u. Ziegler, Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. 56. 1906. S. 108.

Teil VIII.

- Poiseuille, Ann. d. Chimie et de Physique. 7. 1843. S. 50. 21; 1847. S. 76.
 Beck u. Hirsch, Münch. med. Wochenschrift. 1900. Nr. 49.
 Beck u. Hirsch, Deutsch. Arch. f. klin. Mediz. Bd. 69. 1901. S. 503.
 Beck u. Hirsch, Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. Bd. 54. 1905.
 Heubner, Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. Bd. 53. 1905. S. 283.
 Hürthle, Pflügers Arch. Bd. 82. 1900 S. 415.
 Du Pré Denning u. John A. Watson, Proc. of Roy. Soc. Vol. 78. 1906. p. 328.

Teil IX.

- Whatmough, Zeitschr. f. physik. Chemie Bd. 39. S. 39.
 Cantor, Annalen de Physik. 7. 1902. S. 698.
 Fano u. Mayer, Arch. di Fisiologia. Vol. IV. 1907. S. 165.
 Traube, Pflügers Arch. Bd. 105. 1904. S. 559.

Teil X.

- Abbé, Apparate zur Bestimmung des Brechungsvermögens. Jena 1874 u. Sitzungsber. d. Jen. Gesellsch. f. Med. u. Nat. 1879.
 Pulfrich, Zeitschr. f. angewandte Chemie. Heft 48. 1899.
 Reiß, Der Brechungskoeffizient des Blutserums als Indikator f. d. Eiweißgehalt. Dissertation. Straßburg. 1902.
 Reiß, Hofmeisters Beiträge z. chem. Physiol. u. Path. Bd. IV. 1904. S. 150.
 Reiß, Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. Bd. 51. 1904. S. 18.
 Löwe, Chemiker-Zeitung. Nr. 55. 1906.
 Bence, Zentralblatt f. Physiol. Bd. 19. 1906. S. 199.