

Über Anwendung der Dialyse zu quantitativen Bestimmungen.

Von

A. Golodetz.

Mit drei Abbildungen im Text.

(Aus dem chemischen Laboratorium der II. medicin. Klinik der Kgl. Charité. Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 2. Mai 1913.)

Die Eigenschaft der tierischen Membran, Krystalloide von Kolloiden zu trennen, wurde bis jetzt in der analytischen Praxis sehr selten ausgenutzt. Die Schwierigkeiten waren hauptsächlich durch die Langsamkeit des Dialysierprozesses, die eine quantitative Durchführung desselben hinderte, bedingt. Die zur Dialyse gebrauchten Apparate waren so unvollkommen, daß man ungeheuer große Mengen Wasser benötigte, um das Kolloid in völlig reinem Zustande zu erhalten; dabei resultierte das Krystalloid in einem derartig verdünnten Zustande, daß seine quantitative Bestimmung ganz unmöglich wurde. Und doch ist in sehr vielen Fällen das Interesse gerade auf das Krystalloid gerichtet. Es braucht nur auf das Gebiet der physiologischen und teilweise der gerichtlichen Chemie hingewiesen zu werden, wo die quantitative Isolierung von Krystalloiden aus Substanzen tierischen oder pflanzlichen Ursprungs zweifellos von großem Wert wäre. So z. B. erscheint es sehr wichtig, aus tierischen und pflanzlichen Sekreten, Ausscheidungen usw. die darin enthaltenen Salze für sich zu gewinnen. Zwar lassen sich die Kationen dieser Salze durch Veraschung auf nassem und trockenem Wege genau bestimmen, die Anionen jedoch entgehen uns hierbei völlig. Auch erscheint die Metallbestimmung in vielen Fällen sehr schwierig und man kann keine einzige Veraschungsmethode nennen, bei der alle Metalle quantitativ bestimmt werden könnten.

Es steht fest, daß die Bestimmung der Salze in tierischen und pflanzlichen Substanzen, wie sie in Organen vorliegen, die Erkennung der Art der gegenseitigen Bindung der Elemente unmöglich ist ohne Anwendung der Dialyse, des einzigen Pro-

zesses, bei dem die Bedingungen, die irgend welche chemischen Umwandlungen innerhalb der Moleküle hervorrufen können, fehlen. Die Dialyse ist ferner in noch einer Hinsicht für die physiologische Chemie wertvoll und zwar bei der Frage, ob sich das Metall in organischer oder anorganischer Bindung befindet. Die Dialyse gibt darüber Auskunft, da bekanntlich nur die anorganisch gebundenen Metalle diffusionsfähig sind. Wenn beispielsweise in der Milch das Phosphor in 3 Formen vorhanden sein kann: in organischer Bindung (Casein, Lecithin) als lösliches Salz und als unlösliches emulgiertes phosphorsaures Calcium, so kann über die Frage der Verteilung des Phosphors unter diesen 3 Formen allein die Dialyse einen gewissen Anhaltspunkt geben.

Es gelang mir, Apparate zu konstruieren, die allen Anforderungen an eine genaue quantitative Dialyse genügen. Mit Hilfe dieser Apparate konnte ich quantitativ den dialysablen

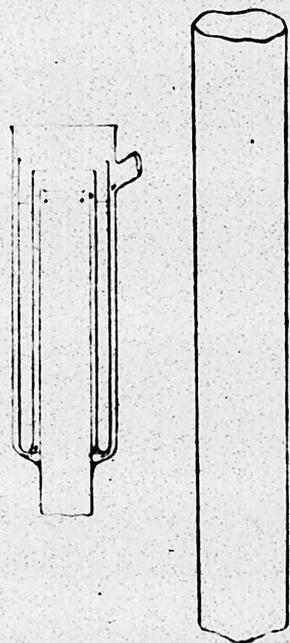


Fig. 1.

Anteil eines Gemisches in einem derartig konzentrierten Zustand gewinnen, daß die weitere Bestimmung keine Schwierigkeiten mehr bieten konnte. Die Konstruktion beruht einerseits auf der Vergrößerung der dialysierenden Oberfläche und andererseits auf der Beschleunigung des Dialysierprozesses selbst. Zu dem ersteren Zweck bekommt der sogenannte Dialysierstrumpf die folgende Form: Fischblase oder Pergamentschlauch werden mit Wasser angefeuchtet und so umgekrempt (siehe Fig. 1), daß sich ein ringförmiger Raum bildet, welcher nun als Behälter für die zu dialysierende Flüssigkeit

dient. Hierbei ist das Verhältnis zwischen Volumen und Oberfläche ein viel größeres, als bei gewöhnlichen zylindrischen Strümpfen. Zur Beschleunigung des Dialysierprozesses selbst benutzte ich das den Soxhletschen Extraktionsapparaten zugrundeliegende Prinzip, d. h. ich umgebe die dialysierende Substanz mit stets frischem destilliertem Wasser, welches

von dem Dialysat selbst kontinuierlich durch Destillation geliefert wird. Zu diesem Zwecke ist das Gefäß, in dem die Dialyse stattfindet, so mit dem Destillationskolben verbunden, daß ein ständiger Abfluß des zur Dialyse benutzten Wassers nach dem Kolben und ein ständiger Zufluß des durch Kochen des Dialysats erhaltenen Destillates nach dem Dialysierzylinder vor sich geht. Wie aus den Fig. 1 und 2 hervorgeht,

arbeitet der Apparat folgendermaßen: In den oberen Dialysierzylinder wird die Dialysierhülse von der geschilderten Form eingeführt und dann mit der betreffenden Flüssigkeit beschickt.¹⁾ Bei Fischblase wird dieselbe oben zugeschnürt, der Pergamentschlauch bleibt offen liegen. In den Zylinder wird sodann so viel Wasser eingegossen, daß der Zylinder voll wird und daß gleichzeitig durch das angebrachte Abflußrohr der untere Kolben bis zur Hälfte des Inhalts sich füllt. Gleich darauf wird die Wasserkühlung in Tätigkeit gesetzt und das Wasser im Kolben zum Sieden gebracht. Der Wasserdampf kondensiert sich im seitlichen Kühler und tritt von oben in den Zylinder ein. Das Kondensat fließt weiter nach unten, dann nach oben, umspült von beiden Seiten die Dialysierhülse, geht dann weiter durch das Abflußrohr zurück nach dem Kolben, wobei es allen dialysablen Anteil mit fortnimmt. Der Prozeß geht ununterbrochen vor sich und der Apparat kann ohne jede Gefahr sich selbst überlassen werden. Der Zeitpunkt der Beendigung der Dialyse läßt sich in der Weise ermitteln, daß man von Zeit zu Zeit aus dem oberen Zylinder Proben entnimmt. Bei Substanzen mit größerer Diffusionskonstanz ist der

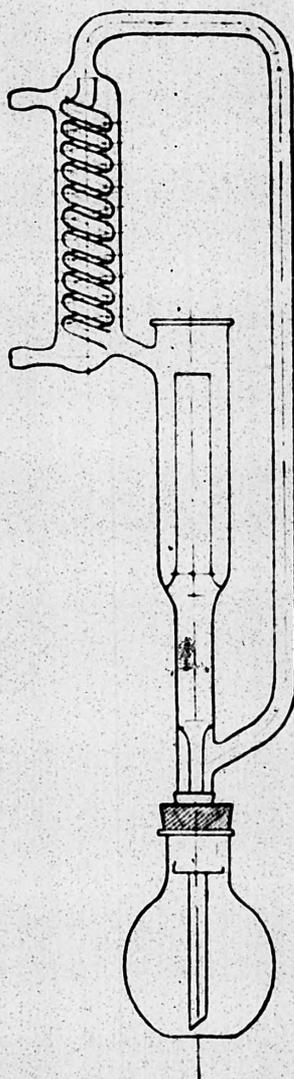


Fig. 2.

¹⁾ Die Apparate sind gewöhnlich auf den Inhalt von etwa 50 bis 75 ccm der zu dialysierenden Substanz berechnet.

Prozeß in 5—6 Stunden beendet, andere wieder erfordern mehr Zeit. Hält man die Dialyse für beendet, so montiert man den oberen Teil des Apparates ab und erhält das gewünschte Dialysat gelöst in 100—150 ccm.

Es ist besonders hervorzuheben, daß das oben im Dialysierzylinder befindliche Wasser fortwährend von unten her sozusagen geheizt wird und stets eine höhere Temperatur, gewöhnlich etwa 50° besitzt. Die erhöhte Temperatur vermag

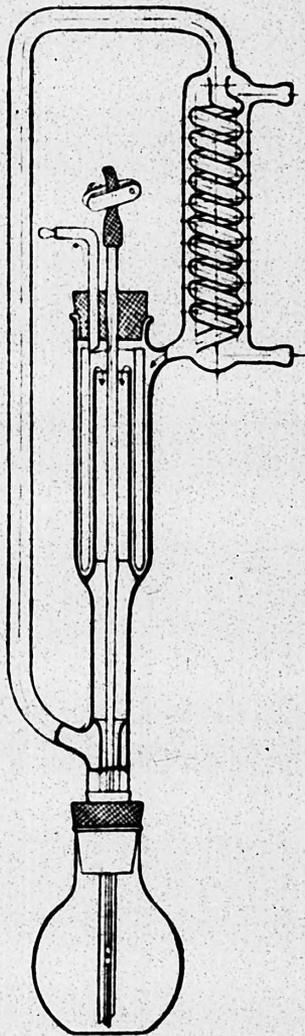


Fig. 3.

Mit diesem Apparat sind nun von mir zahlreiche Versuche an Milch, Blut und künstlich zubereiteten Gemischen

im allgemeinen jede Dialyse zu beschleunigen, kann aber auch mitunter bei leicht veränderlichen organischen Sekreten Zersetzungen hervorrufen. Außerdem ist bei vielen Bestimmungen, wie z. B. im Falle von organischen kristallisierten Verbindungen (Harnsäure, Purinbasen) oder bei Bestimmung von Reststickstoff und dergleichen zu befürchten, daß sich die dialytische Substanz während des mehrstündigen Siedens im Kolben zersetzt. Auf Anraten des Herrn Prof. Brugsch habe ich für diese Fälle eine entsprechende Änderung der Konstruktion vorgesehen: die obere Öffnung (siehe Fig. 3) wird mit einem Stopfen geschlossen und der Dialysierraum mit der Wasserpumpe verbunden. Bei 30—40 mm Druck kann man das Wasser im Kolben, bei 40 bis 45° im Sieden erhalten, ohne Zersetzungen zu befürchten. Zum Zwecke des gleichmäßigen Siedens werden in die Flüssigkeit durch die an der Zeichnung sichtbare Kapillare Luftblasen eingeführt.¹⁾

¹⁾ Die beschriebenen Apparate werden in vorzüglicher Ausführung von den «Vereinigten Fabriken für Laboratoriumsbedarf» in Berlin angefertigt.

angestellt worden. Zur Beurteilung der erzielten Trennung von Krystalloid und Kolloid will ich im folgenden meine Resultate mitteilen.

Versuch I. 25 ccm einer 1%igen NaCl-Lösung wurden im Pergamentschlauch der Dialyse unterworfen. Nach 1³/₄ Stunden war im Dialysat 0,2325 g NaCl enthalten entsprechend 93% der Gesamtmenge NaCl. Später ging die Dialyse langsamer vor sich und erst nach 5 Stunden zeigte eine entnommene Probe des Dialysates auf Zusatz von AgNO₃ keine Trübung mehr.

Versuch II. Dialyse von Milch. Zur Untersuchung gelangten 25 ccm Milch, welche 5 Stunden lang dialysiert wurden. Im Dialysat wurden bestimmt Trockenrückstand, Asche, Chlor, CaO und P₂O₅. Analoge Bestimmungen wurden durch direkte Veraschung der Milch vorgenommen. Ergebnis:

	100 ccm Milch enthalten	
	Nach Analyse der Asche g	Durch Bestimmung im Dialysat g
Trockenrückstand . . .	—	4,836
Asche	0,682	0,600
Chlor	0,0604	0,0925
CaO	0,168	0,0864
P ₂ O ₅	0,224	0,1016

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß NaCl und offenbar alle anderen dialysablen Salze der Milch in vollkommen genügender Weise durch Dialyse ausgeschieden worden sind. Bei der Veraschung hat sich ein Teil des Chlors verflüchtigt. Vom Gesamtphosphor ist etwa nur die Hälfte herausdialysiert, der Rest ist organisch als Casein, Nucleon, Lecithin, sowie möglicherweise in Form von Calciumtriphosphat gebunden. Vom Calcium ist ebenfalls ein Teil organisch an Casein oder auch an Triphosphat gebunden.

Versuch III. Dialyse von Blut. 25 ccm Hammelblut wurden in einem Pergamentschlauch 5 Stunden lang der Dialyse unterworfen. Zufolge langen Siedens verfärbt das Wasser im Kolben etwas und es scheidet eine phosphor- und kalkhaltige Trübung (Tricalciumphosphat?) aus. Im Dialysat sowie in einer Probe des Blutes wurde die Asche bestimmt.

100 ccm Blut enthalten nach direkter Veraschung 0,894 g Asche
 100 „ „ „ als Dialysat 0,848 „ „

Außerdem wurde im Dialysat Chlor und P_2O_5 bestimmt und zwar enthielt dasselbe 0,2318 g Cl und 0,9504 g P_2O_5 .

Diese Zahlen entsprechen ungefähr den über die Zusammensetzung des Blutes von verschiedenen Autoren gemachten Angaben.

Versuch IV. Speziell zur Prüfung der Vollständigkeit der Ausscheidung von NaCl wurde noch folgender Versuch gemacht:

50 ccm Hammelblut, welches durch lang andauernde Dialyse von sämtlichen dialysablen Bestandteilen befreit worden ist, wurden mit 25 ccm 1%iger NaCl-Lösung vermischt und das Gemisch der Dialyse in einem Pergamentschlauch unterworfen. Nach 7 Stunden enthielt das Dialysat 0,2452 g NaCl entsprechend 98,1% des zugesetzten Salzes.

In vielen Fällen der gerichtlich-chemischen Praxis ist es wichtig, den Gehalt irgend eines Organes, eines Sekretes oder auch eines Genussmittels an einem Giftstoff quantitativ zu bestimmen. Häufig bietet die Isolierung des Giftstoffes ungeheure Schwierigkeiten und auch die Veraschung erweist sich mitunter als unanwendbar. Da erscheint die Dialyse mit meinem Apparat als eine sehr wertvolle Methode. Zur Illustration sollen folgende Beispiele dienen.

Versuch V. 50 ccm Milch wurden mit 10 ccm einer Lösung von 0,1854 g KCN in 200 ccm Wasser entsprechend 0,00927 g KCN vermischt. Es wurde gerade diese Verdünnung genommen, da bei einem solchen Prozentgehalt die genaue Bestimmung des Giftes in gerichtlich-medizinischer Beziehung von entscheidender Bedeutung sein kann. Das erhaltene Gemisch wurde 7 Stunden lang der Dialyse unterworfen, als eine aus dem Dialysierzylinder entnommene Probe keine Reaktion mehr mit $AgNO_3$ gab. Sowohl in der ursprünglichen Mischung, als auch im Dialysat wurde das Cyankali nach Liebig bestimmt:

Angewandt	0,00902 g KCN
Im Dialysat wiedergefunden	0,00874 „ „

Versuch VI. In 50 ccm künstlichem Mageninhalt (eines Gemisches von gekautem Brot, Wasser, Salzsäure und Pepsin) wurden 0,0185 Oxalsäure ($H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$) aufgelöst, und die Mischung einer 6stündigen Dialyse unterworfen. Im Dialysat wurde die Oxalsäure durch Fällen mit Chlorcalcium bestimmt. Gefunden 0,00675 g CaO entsprechend 0,0152 g Oxalsäure. In diesem Falle gab die Dialyse kein genaues quantitatives Resultat. Das liegt wohl daran, daß für die Oxalsäure bei dieser geringen Konzentration eine sechsstündige Dialyse eben nicht ausreicht.

Versuch VII. 50 ccm Reissuppe vermischt mit 20 ccm einer Lösung von 0,1715 g As_2O_3 in 200 ccm Wasser entsprechend 0,01715 g As_2O_3 wurde 6 Stunden lang dialysiert. Die darauf erfolgte Arsenbestimmung im Dialysat nach Mohr gab 0,01719 g As_2O_3 . Demnach ging die Säure quantitativ ins Dialysat über.

Diese genau ausgeführten verschiedenartigen Untersuchungen bringen einen genügenden Beweis dafür, daß die von mir beschriebenen Apparate eine bequeme und schnelle quantitative Dialysatbestimmung ermöglichen. Mit der Modifikation der Apparate, welche für Dialyse leicht zersetzbarer und veränderlicher Stoffe angepaßt ist, wurde keine besondere Versuchsreihe angestellt. Es ist für Herrn Dr. H. Rosenberg das Recht vorbehalten, in unserem Laboratorium Versuche zur Bestimmung von Harnsäure im Blut mit Hilfe meiner Dialysatoren zu machen.
