

Anleitung

für das

Physiologische Praktikum



Dorpat

Ed. Bergmann's Typo-Lithographie

1919

Anleitung

für das

Physiologische Praktikum

Bibliotheca
universitatis
Dorpatensis

~~26973~~

Dorpat

Ed. Bergmann's Typo-Lithographie

1919

Vorbemerkung.

In der Anleitung sind sämtliche Versuche aufgezählt, die von den Teilnehmern des Praktikums ausgeführt werden müssen. Kleinere Versuche, chemische Reaktionen und mikroskopische Beobachtungen sind von jedem einzelnen Praktikanten gesondert auszuführen. Grössere Versuche werden von einer Gruppe von Praktikanten ausgeführt, wobei alle zu der Gruppe gehörenden Praktikanten mitarbeiten müssen. Einige grössere Versuche werden vom Assistenten unter Beihilfe der Praktikanten angestellt.

Diese Anleitung ist gleichzeitig mit dem „Physiologischen Praktikum“ von Max Verworn zu benutzen. In der Anleitung sind nur diejenigen Versuche beschrieben, die in dem „Praktikum“ von Verworn nicht enthalten sind oder die in dem Praktikum an der Universität Dorpat in anderer Weise ausgeführt werden. Die Hinweise auf die Seitenzahlen beziehen sich auf die IV. Auflage des Buches von Verworn.

Inhalt.

	Seite.
Vorbemerkung	V
Allgemeine Physiologie.	
Der physikalische Zustand der lebendigen Substanz.	
Protoplasmaströmung bei Tradescantia	1
Das Protoplasma als semipermeable Membran.	
Herstellung einer Traube'schen Membran	1
Einfluss isotonischer, hypotonischer und hyper- tonischer Kochsalzlösung auf die roten Blut- körperchen	
Nachweis der Dissoziation in verdünnten Lösun- gen von Kobaltsalzen	2
Die chemische Zusammensetzung der lebendigen Substanz.	
Eiweissstoffe.	
Elementaranalyse von Eiweiss	3
Nachweis von Wasserstoff und Kohlenstoff	3
Nachweis von Stickstoff	4
Nachweis von Schwefel	4
Nachweis von Phosphor im Kasein	4
Eiweissreaktionen	5
Fällungsproben	5
Konstitutiasproben	6
Koagulation der Eiweissstoffe beim Erwärmen	7
Trennung der Globuline und Albumine	7
Kolloide und Kristalloide	8
Reaktionen des Peptons	8
Dialyse einer Peptonlösung	8
Vollständige Hydrolyse von Eiweiss	9

Kohlehydrate.

Nachweis, dass Kohlehydrate keinen Stickstoff enthalten	9
Reaktionen des Traubenzuckers	9
Reaktionen des Fruchtzuckers*	9
Rohrzucker	10
Milchzucker	10
Stärke	10
Dextrin und Glykogen	10
Zellulose	11

Fette.

Nachweis, dass Fette keinen Stickstoff enthalten	11
Löslichkeit der Fette	11
Alkroleinreaktion mit Olivenöl und Glycerin .	11
Spaltung und Verseifung der Fette	11
Nachweis, dass Kalk- und Bleiseifen in Was- ser unlöslich sind	12
Ausfällen der wasserlöslichen Natronseifen durch Kochsalz	12
Ausfällen der Fettsäuren und Lösung derselben in Aether	12
Emulgierung der Fette	12
Osmiumsäurefärbung der Fette	12

Lezithin.

Nachweis, dass Lezithin Stickstoff enthält . .	13
Nachweis des Phosphors im Lezithin	13
Löslichkeit des Lezithins	13
Abspaltung von Trimethylamin	13

Cholesterin.

Löslichkeit des Cholesterins	13
Mikroskopische Betrachtung von Cholesterin- kristallen	14
Reaktionen des Cholesterins	14
* Darstellung des Cholesterins aus Gallensteinen	14

Einfluss der Reize.

Einfluss der Temperatur auf die Schlagzahl des Froschherzens	14
Einfluss der osmotischen Reize auf das zen- trale Nervensystem	14
Herstellung eines Nervmuskelpräparats	15

Mechanische Reizung des Nerven	15
Thermische Reizung des Nerven	15
Osmotische Reizung des Nerven	15
Elektrische Reize	16
Die polaren Wirkungen des elektrischen Stromes	16
Tropische Bewegungen.	
Negative Geotaxis	16
Galvanotaxis	16
Chemotaxis	16
Energieproduktion.	
Wärmeproduktion bei Homiothermen und Poikilothermen	17
Reizung durch den Demarkationsstrom (Galvanis Versuch)	18
Sekundäre Zuckung	18
Ostwald'sches Herz	18
Ruhestrom und Aktionsstrom	18
Stoffwechsel.	
Versuch mit Müller'schen Ventilen	18
Untersuchung des Gaswechsels beim Meer-schweinchen	18
Temperaturregulierung.	
Messung der Körpertemperatur	20
Verhalten der Körpertemperatur bei Poikilothermen bei wechselnder Aussentemperatur	20
Versagen der Temperaturregulierung	20
Nachweis des Wärmeverbrauchs bei Verdunstung von Wasser	20
Blut und Lymphe.	
Mikroskopische Betrachtung des Blutes	21
Zählung der Blutkörperchen	21
Haemolyse	21
Das Hämoglobin	21
Venöswerden des Blutes beim Stehen	21
Venöswenden des Blutes bei der Durchleitung von CO_2	22
Umwandlung von Oxyhämoglobin in Kohlenoxydhämoglobin	22
Widerstandsfähigkeit des Kohlenoxydhämoglobins	22

Hämoglobinbestimmung nach Sahli	22
Gerinnung des Blutes	22
Mikroskopische Betrachtung des Gerinnsels	22
Nachweis, dass Fibrin Eiweissnatur besitzt	22
Bildung von löslichem Alkalialbuminat aus Fibrin	22
Die Reaktion des Serums	23
Eiweissproben mit Blutserum	23
Ausfällung der Globuline durch CO_2	23
Aussalzen der Eiweissstoffe aus dem Serum	23
Vermehrte Lymphbildung bei Hyperämie und Schä- digung der Gefässwände	23
Verdauung.	
Katalyse von H_2O_2 durch Quecksilber	24
Stärkeverdauung im Munde	24
Nachweis der schwach alkalischen Reaktion des Speichels	25
Stärkeverdauung im Reagenzglas	25
Herstellung eines künstlichen Magensaftes	25
Fibrinverdauung mit künstlichem Magensaft	26
Bedingungen der Eiweissverdauung durch Magensaft	26
Differenzierung von nativem Eiweiss und Peptonen	26
Dialyse der peptischen Verdauungsprodukte	26
Kaseinfällung durch Magensaft	26
Chemische Untersuchung des Magensaftes	27
Eiweissverdauung durch Pankreassaft	28
Bedingungen der Eiweissverdauung durch Trypsin	28
Fettverdauung durch Pankreas	28
Stärkeverdauung durch Pankreas	29
Untersuchung der Milch und der Galle	29
Darmperistaltik	29
Atmung	
Nachweis der Residualluft in der Lunge	29
Beispiel eines Oxydationsfermentes	30
Harn.	
Bestimmung des Gesamtstickstoffs nach Kjeldahl	30
Bestimmung der Chloride im Harn	31
Bewegung	32
Nervensystem	32
Sinnesorgane	32

Allgemeine Physiologie.

Der physikalische Zustand der lebendigen Substanz.

Protoplasmaströmung bei Tradescantia. Aus der Blüte oder der Knospe von Tradescantia werden einige blaue Staubfadenhaare mit Hilfe einer Pinzette entnommen und auf einen Objektträger in einen Tropfen Wasser gebracht. Das Präparat wird mit einem Deckglas bedeckt und bei starker Vergrößerung betrachtet. Gewöhnlich dauert es einige Zeit, bis die Strömung genügend stark geworden ist; bei der Anfertigung des Präparats werden die Zellen augenscheinlich geschädigt. Am deutlichsten sieht man die Körnchenströmung in den Protoplasmasträngen zwischen den Vakuolen. Man kann auch beobachten, wie ein Protoplasmaström sich verzweigt. Ferner kann man sehen, dass die Richtung der Strömung in den einzelnen Strängen verschieden ist.

Das Protoplasma als semipermlable Membran.

Herstellung einer Traube'schen Membran. Man füllt eine Kapillarpipette mit konz. Kupfersulfatlösung und taucht die Spitze der Pipette in 4^o/_o Ferrocyankaliumlösung (in einem Becherglas auf weisser Unter-

lage). Dann lässt man, indem man ganz leicht auf den Gummi der Pipette drückt, einen kleinen Tropfen $CuSO_4$ aus der Pipette in die Ferrocyankaliumlösung austreten. Es bildet sich ein Säckchen aus einer braunen Membran, die aus Ferrocyankupfer besteht. Das Säckchen ist mit $CuSO_4$ gefüllt. Es bleibt an der Oberfläche oder an der Pipette hängen oder es sinkt zu Boden. Wenn der Tropfen hängen geblieben ist, sieht man, dass das Säckchen an Volumen zunimmt. Es handelt sich um die Bildung einer Niederschlagsmembran, die für $CuSO_4$ und für Ferrocyankaliumlösung undurchlässig ist. Es kann nur H_2O durch die Membran hindurchtreten. Wir ersehen das daraus, dass die blaue Farbe des Inhalts erhalten bleibt. Wird die Membran durch das eintretende Wasser stark gedehnt, so kann sie reißen. Es tritt dann $CuSO_4$ an den Rissstellen aus und verbindet sich mit dem Ferrocyankalium zu braunem Ferrocyankupfer. Dadurch wird der Riss wieder geschlossen, aber der Tropfen gewinnt ein höckeriges Aussehen.

Einfluss isotonischer, hypotonischer und hypertotonischer $NaCl$ -Lösung auf die roten Blutkörperchen. Siehe Verworn IV, S. 80 u. 81. Man nimmt jedoch statt Speichel eine 0,75% $NaCl$ -Lösung.

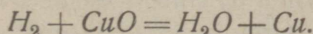
Nachweis der Dissoziation in verdünnten Lösungen von Kobaltsalzen. Man füllt in zwei breite Reagenzgläser je 5 ccm einer 60% alkoholischen Lösung von Kobaltchlorid und stellt sie nebeneinander in das Reagenzglasstativ. In zwei andere breite Reagenzgläser gibt man je 5 ccm einer 73% alkoholischen Lösung von Kobaltnitrat. Die Lösung von Kobaltchlorid ist blau, die Lösung von Kobaltnitrat purpur-

rot. Nun gibt man in das zweite Reagenzglas mit Kobaltchlorid und ebenso in das zweite Reagenzglas mit Kobaltnitrat je 25 ccm H_2O . Die blaue bezw. purpurrote Farbe schlägt in beiden Reagenzgläsern in ein ganz gleichartiges Rosa um. Infolge der Verdünnung sind die Kobaltsalze weitgehend dissoziiert, und da in der sechsfachen Verdünnung der Stammlösung der beiden Salze gleichviel dissoziiertes Kobalt enthalten ist, so haben sie dieselbe rosa Farbe des dissoziierten Kobaltjons. In der konzentrierten Lösung ist das Kobalt im Kobaltchlorid- bezw. Kobaltnitrat-Molekül gebunden. Die Moleküle bedingen die blaue bezw. purpurrote Farbe der Lösung.

Die chemische Zusammensetzung der lebendigen Substanz.

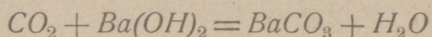
Eiweisstoffe.

Elementaranalyse von Eiweiss. Nachweis von Wasserstoff und Kohlenstoff: Eine Messerspitze pulverisiertes Eiweiss wird in einer kleinen Reibschale mit der gleichen Menge Kupferoxyd gut verrieben. Das Gemisch wird in ein trockenes Reagenzglas gebracht und erhitzt. Der obere, kältere Teil des Reagenzglases beschlägt sich mit Wasser. Der im Eiweiss enthaltene Wasserstoff hat dem Kupferoxyd den Sauerstoff entzogen:

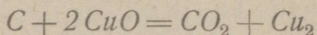


Vor die Mündung des Reagenzglases mit der erhitzten Substanz hält man nun einen Glasstab, den man in Barytwasser $Ba(OH)_2$ getaucht hat. Der

Glasstab soll nur feucht sein, das Barytwasser darf nicht vom Glasstab tropfen. Der Glasstab beschlägt sich mit weissem Bariumcarbonat. Es wird also Kohlendioxyd entwickelt:



Das CO_2 weist darauf hin, dass in der erhitzten Substanz Kohlenstoff enthalten ist:



Nachweis von Stickstoff: Eine Spur pulverisiertes Eiweiss wird in einer kleinen Reibschale mit der gleichen Menge Natronkalk (einem Gemisch von $NaOH$ und $Ca(OH)_2$) gut gemengt. Das Gemenge wird im Reagenzglas erhitzt. Es bildet sich Ammoniak, das an seinem stechenden Geruch erkannt werden kann. Rotes, mit destilliertem Wasser angefeuchtetes Lackmuspapier wird vor die Mündung des Reagenzglases gehalten: das Papier wird blau. Aus der Probe geht hervor, dass im Eiweiss Stickstoff enthalten ist.

Nachweis von Schwefel: Pulverisiertes Eiweiss wird in einem Tiegel mit der dreifachen Menge Natriumcarbonat und Kaliumnitrat gut verrieben. Das Gemenge wird dann im Tiegel zum Schmelzen gebracht. Nachdem die Schmelze erkaltet ist, fügt man einige ccm H_2O und einige Tropfen HCl hinzu. Nachdem die Schmelze sich gelöst hat, bringt man eine Probe derselben in ein Reagenzglas und fügt einige Tropfen Bariumchlorid hinzu: es bildet sich ein Niederschlag vom Bariumsulfat. Es geht daraus hervor, dass im Eiweiss Schwefel enthalten ist.

Nachweis von Phosphor im Kasein: Eine Messerspitze Kasein wird in einem Rundkolben,

der 750 ccm fasst und mit einem langen Halse versehen ist, mit etwa 10 ccm eines Gemisches von gleichen Teilen konz. Schwefelsäure und rauchender Salpetersäure übergossen und dann unter dem Abzug mit kleiner Flamme erhitzt. Wenn die braunroten Dämpfe schwächer werden, fügt man wieder einige Tropfen Säuregemisch hinzu. Wenn nach dem Verschwinden der braunen Dämpfe die Flüssigkeit im Kolben sich nicht mehr schwärzt (Kohle!) und nicht mehr dunkler wird, so ist die Veraschung zu Ende gekommen. Im entgegengesetzten Falle muss wieder etwas Säuregemisch hinzugefügt werden. Ist die Substanz verascht, so gibt man etwa 150 ccm Wasser hinzu und erhitzt, um die braunen Dämpfe zu vertreiben, die bei der Zersetzung der Nitrosylschwefelsäure entstanden sind. Eine Probe der sauren Aschenlösung wird mit $\frac{1}{3}$ Vol. 50% Ammoniumnitratlösung versetzt und erhitzt, bis eben Blasen aufzusteigen beginnen. Dann gibt man etwas 10% Ammoniummolybdat hinzu. Die Flüssigkeit wird zitronengelb. Beim Erwärmen bildet sich ein feinkörniger gelber Niederschlag von Ammoniumphosphormolybdat — $(NH_4)_3PO_4 \cdot 12 MoO_3$.

Eiweissreaktionen. Fällungsproben. Siehe Verworn IV, S. 53.

Zu „Pikrinsäurefällung“: Die Fällung der Eiweissstoffe mit Pikrinsäure hat auch in der Klinik Anwendung gefunden. Man benutzt sie zum quantitativen Nachweis von Eiweiss im Harn. Man verwendet das sogen. „Esbachsche Reagens“, das 2% Zitronensäure und 1% Pikrinsäure enthält. Das Reagens wird mit einer abgemessenen Menge Harn in einem bestimmten Verhältnis im Essbach'schen Röhrchen gemischt und bis zum nächsten Praktikum stehen gelassen.

Das Essbach'sche Röhrchen ist entsprechend geeicht und zeigt den Eiweissgehalt pro Mille direkt an.

Konstitutionsproben.

1) *Biuretprobe*. Siehe Verworn IV, S. 4. Sie weist hin auf eine benachbarte Anordnung der Gruppen $CO-NH$ oder ähnlicher Gruppen.

2) *Reaktion von Molisch*.

Man gibt zu 5 ccm. Eiweisslösung einige Tropfen einer 20% alkoholischen α -Naphthollösung und dann allmählich 1—2 ccm. konz. H_2SO_4 . Die Mischung nimmt eine violette Farbe an. Die Reaktion beruht auf der Anwesenheit einer Kohlehydratgruppe in Eiweissmolekül; aus dem Kohlehydrat entsteht Furfurol, eine heterozyklische Verbindung, die mit aromatischen Verbindungen Farbstoffe bildet. Die Probe wird nur mit einer 1% Zuckerlösung ausgeführt. Man fügt zu einigen ccm. der Zuckerlösung einige Tropfen α -Naphthollösung hinzu und dann 1—2 ccm. konz. H_2SO_4 . Dann wird die Reaktion mit Furfurol ausgeführt: zu einigen ccm. H_2O gibt man ein paar Tropfen einer 0,2% Furfurollösung und konz. H_2SO_4 .

3) *Xanthoproteinprobe*. Siehe Verworn IV, S. 4. Sie ist charakteristisch für die aromatischen Bausteine des Eiweiss: für Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan. Die Xanthoproteinreaktion wird nun mit Tyrosin ausgeführt.

4) *Millon'sche Probe*. Siehe Verworn IV, S. 5.

5) *Schwefelbleiprobe*. Siehe Verworn IV, S. 6. Sie zeigt den Schwefelgehalt der Eiweissstoffe an und ist charakteristisch für die S-haltige Aminosäure Cystin.

6) *Adamkiewicz'sche Probe*. Siehe Verworn IV, S. 5. Die Reaktion ist charakteristisch für gebundenes Tryptophan. Freies Tryptophan färbt sich mit Bromwasser rot bis violett.

Koagulation der Eiweissstoffe beim Erwärmen.

5 ccm. einer Eiweisslösung werden gekocht. Es bildet sich ein weisses dickes Coagulum. Dann werden 5 ccm. Eiweisslösung mit NaOH stark alkalisch gemacht und gekocht. Man überzeugt sich, dass die Gerinnung des Eiweiss jetzt ausbleibt. Zu einer dritten Eiweissprobe gibt man einige Tropfen verdünnte Essigsäure bis zur deutlich sauren Reaktion und kocht. Man überzeugt sich, dass Gerinnung eintritt. Die saure Reaktion stört nicht die Gerinnung beim Kochen, sondern begünstigt sie. Sehr schön lässt sich das Verhalten von Eiweiss bei alkalischer bzw. saurer Reaktion des Mediums vergleichen, wenn man die Probe in folgender Weise ausführt. Zu der heissen alkalischen Eiweisslösung fügt man tropfenweise verd. HCl hinzu; man sieht dann, dass der in die Eiweisslösung fallende Säuretropfen das Eiweiss zur Fällung bringt, dass der Niederschlag sich aber sofort wieder löst, um erst zu bleiben, wenn genügende Mengen Säure hinzugegeben sind.

Trennung der Globuline und Albumine. Es wird das Weiss eines Hühnereis mit destilliertem Wasser gut verrieben. Die Lösung wird trübe: die Globuline fallen in weissen Flocken aus. Man bringt die trübe Lösung in ein Spitzglas. Die Globulinflocken fallen zu Boden. Ein Teil der Lösung wird in ein Reagenzglas filtriert. Man überzeugt sich, dass das Filtrat Eiweiss enthält, indem man es nach Ansäuern mit verdünnter Essigsäure kocht: die wasserlöslichen Albumine sind ins Filtrat übergegangen. Dann giesst man von der trüben Lösung eine Probe in ein Reagenzglas und fügt einige Tropfen konzentrierter Ammoniumsulfatlösung hinzu. Die Globulinflocken lösen sich wieder, weil jetzt genügende Salz-

mengen zugegen sind. Fügt man nun das gleiche bis doppelte Volumen konzentrierter Ammoniumsulfatlösung hinzu, so fallen die Globuline wieder aus: die Globuline werden ausgesalzen.

Kolloide und Kristalloide. Man bringt 50 ccm Eiweisslösung in einen kleinen Dialysator und lässt einige Zeit stehen. Eine Probe des destillierten H_2O aus dem äusseren Gefäss hat man vor Einsetzen des Dialysators in ein Reagenzglas gebracht. Nach etwa $\frac{1}{2}$ Stunde wird aus dem äusseren Gefäss wieder eine H_2O Probe entnommen. Man versetzt nun beide Proben mit einigen Tropfen verdünnt. HNO_3 und Silbernitrat und überzeugt sich, dass die erste Probe chlorfrei ist, die zweite dagegen Chlor enthält. Aus der $NaCl$ -haltigen Eiweisslösung ist $NaCl$ durch die Membran diffundiert. Man stellt nun mit einer anderen Probe aus dem Wasser des äusseren Gefässes die Kochprobe an und überzeugt sich, dass sie eiweissfrei ist. Eiweiss diffundiert nicht durch pflanzliche oder tierische Membranen. Das $NaCl$ ist ein Kristalloid, das Eiweiss ein Kolloid.

Reaktionen des Peptons. Man führt mit einer 1 $\%$ -igen Peptonlösung folgende Eiweissreaktionen aus:

	Resultat.
1) Die Kochprobe	—
2) Die Heller'sche Probe	—
3) Die Probe mit Phosphorwolframsäure	+
4) Die Alkoholprobe	+
5) Die Biuretprobe	+

Die ersten beiden Proben fallen negativ aus, die drei letzteren — positiv.

Dialyse einer Peptonlösung. Eine 5 $\%$ -ige Peptonlösung wird in einen kleinen Dialysator gebracht. Nach etwa $\frac{1}{2}$ Stunde entnimmt man 5 ccm

vom Wasser aus dem äusseren Gefäss und macht die Phosphorwolfram- und Biuretprobe. Man überzeugt sich, dass Pepton im Gegensatz zu Eiweiss durch die Membran diffundiert ist.

Vollständige Hydrolyse von Eiweiss. 20 g pulverisiertes Eiweiss werden in einen Rundkolben von 500 ccm. gebracht und mit 60 ccm rauchender Salzsäure (spez. Gewicht 1,19) übergossen. Man erwärmt das Gemisch auf dem Wasserbad, bis die Substanz sich löst. Dann versieht man den Kolben mit einem Rückflusskühler und kocht ca. 6 Stunden über der Flamme. Es tritt vollkommene Hydrolyse ein. Man verdünnt die Lösung nach dem Erkalten mit Wasser. Man führt nun die Kochprobe und die Biuretprobe aus. Die Proben fallen negativ aus. Es ist also in der Lösung kein Eiweiss und kein Pepton enthalten. Dagegen fallen die Reaktionen, die für freie Aminosäuren charakteristisch sind, positiv aus. Man führt die Millon'sche Reaktion aus, die die Anwesenheit von Tyrosin anzeigt.

Kohlehydrate.

Nachweis, dass Kohlehydrate keinen Stickstoff enthalten. Eine Spur Rohrzucker wird mit Natronkalk gemengt und im Reagenzglas erhitzt. Man überzeugt sich, dass vor die Mündung des Reagenzglases gehaltenes rotes Lackmuspapier (mit destilliertem H_2O vorher anfeuchten) nicht gebläut wird.

Reaktionen des Traubenzuckers. Siehe Verworn IV, S. 9—13.

Reaktionen des Fruchtzuckers.

Trommer'sche Probe. Man macht mit einer 10/0 Fruchtzuckerlösung die Probe. Sie fällt positiv aus.

Seliwanoff'sche Ketosereaktion des Fruchtzuckers. Der Fruchtzucker ist gegenüber dem Traubenzucker durch seine Ketongruppe $C=O$ ausgezeichnet. Man gibt zu 1 ccm konz. HCl 1 ccm H_2O , dann einen Tropfen einer 1 $\frac{0}{0}$ -gen Fructoselösung und einige Kriställchen Resorcin. Darauf wird erhitzt. Das Gemisch färbt sich rot und es scheidet sich ein dunkler Niederschlag ab. Fügt man nun Alkohol hinzu, so löst sich der Niederschlag mit roter Farbe. Diese Reaktion ist für die Ketongruppe charakteristisch. Viele Ketone geben diese Reaktion. Der Reaktion liegt die Bildung eines Furfurols aus dem Fruchtzucker zugrunde, das bei Gegenwart von aromatischen Verbindungen einen Farbstoff bildet. Die Reaktion wird nun mit einem Tropfen einer Furfurollösung ausgeführt.

Rohrzucker. Die Trommer'sche u. Böttcher'sche Probe fallen negativ aus. Invertierung: Siehe Verworn IV, S. 16. Gärprobe — fällt positiv aus.

Milchzucker. Siehe Verworn IV, S. 17.

Stärke. Siehe Verworn IV, S. 17.

Dextrin und Glykogen. Fällung mit Alkohol. Eine Messerspitze Dextrin bzw. Glykogen werden im Reagenzglas gelöst. Man gibt allmählich reichlich absoluten Alkohol hinzu, bis Fällung eintritt.

Jodprobe. Siehe Verworn p. 18.

Spaltung von Dextrin und Glykogen. Man stellt die Reduktionsprobe (Trommer) an, die negativ ausfällt. Dann Spaltung durch Kochen mit verd. Säure wie bei Stärke. Siehe Verworn IV, S. 18.

Zellulose. Jodprobe der Zellulose. Man übergiesst etwas Filtrierpapier in einem kleinen Porzellanschälchen mit konz. H_2SO_4 und fügt einen Tropfen Jodjodkaliumlösung hinzu. Es tritt Violettfärbung ein.

Spaltung von Zellulose. Man übergiesst in einer kleinen Porzellanschale etwas Watte mit konzentrierter H_2SO_4 . Die Watte löst sich. Dann fügt man das doppelte bis dreifache Volumen H_2O hinzu, unter Umrühren mit dem Glasstab, um die Verkohlung zu vermeiden. 1—2 ccm dieser Lösung werden etwa 2 Minuten im Reagenzglas gekocht, dann mit $NaOH$ überneutralisiert. Es tritt zunächst Gelbfärbung ein (Karamelprobe). Dann wird die Trommer'sche Probe ausgeführt.

Fette.

Nachweiss, dass Fette keinen Stickstoff enthalten. Man gibt in ein Reagenzglas etwas Natronkalk und einen Tropfen Olivenöl. Darauf wird erhitzt. Mit destilliertem H_2O angefeuchtetes rotes Lackmuspapier, das vor die Mündung des Reagenzglases gehalten wird, wird nicht gebläut.

Löslichkeit der Fette. Man gibt einen Tropfen Olivenöl in je 5 ccm. Wasser, Alkohol, Aether und Chloroform. Man überzeugt sich, dass das Oel sich in Wasser überhaupt nicht löst. In Alkohol löst sich das Oel etwas, leicht dagegen in Aether und Chloroform.

Akroleinreaktion mit Olivenöl und Glyzerin.
Siehe Verworn IV, p. 19.

Spaltung und Verseifung der Fette. In ein Reagenzglas werden 5 ccm. $NaOH$ gebracht. In ein

anders wird ein kleiner Tropfen Olivenöl in 5 ccm. Alkohol gebracht. Beide Flüssigkeiten werden gekocht und dann zusammengegossen (Vorsicht!). In der Lösung befinden sich Fett, Glycerin und Natronseifen.

Nachweis, dass Kalk- und Bleiseifen in Wasser unlöslich sind. 1 ccm. der Lösung von Glycerin und Natronseifen aus dem vorigen Versuch wird mit der doppelten Menge H_2O verdünnt und mit einigen Tropfen $CaCl_2$ -Lösung versetzt: es fallen unlösliche Kalkseifen aus. Eine andere, in derselben Weise verdünnte Probe wird mit einigen Tropfen Bleiacetat versetzt: es fallen unlösliche Bleiseifen aus.

Ausfällen der wasserlöslichen Natronseifen durch $NaCl$. Zu 3 ccm. der Lösung von Glycerin und Natronseifen wird eine reichliche Menge gut pulverisiertes $NaCl$ gegeben. Die Natronseifen sind in konzentrierter Kochsalzlösung unlöslich: das Gemisch wird trübe.

Ausfällen der Fettsäuren und Lösung derselben in Aether. 1 ccm der Lösung von Glycerin und Seifen wird mit H_2O verdünnt, bis die Lösung klar geworden ist. Dann werden allmählich 1 bis 2 ccm. verdünnter H_2SO_4 hinzugefügt. Es tritt eine Trübung ein, die von den ausfallenden Fettsäuren herrührt. Die Fettsäuren sind in H_2O unlöslich. Fügt man nun zu der trüben Lösung etwas Aether hinzu und schüttelt gut, so wird die Lösung bald klar: die Fettsäuren lösen sich in Aether.

Emulgierung der Fette. }
Osmiumsäurefärbung der Fette. } Verworn IV
p. 20/21.

Lezithin.

Nachweis, dass Lezithin N enthält. Die Probe wird, wie oben S. 4 angegeben, mit einem linsengrossen Stück Lezithin ausgeführt. Das Lezithin wird mit Hilfe eines Glasstabs entnommen.

Nachweis des Phosphors im Lezithin. Man lässt das Gemisch aus dem vorigen Versuch erkalten, gibt 5 ccm. verd. H_2SO_4 , dann etwas Ammoniumnitratlösung hinzu, dekantiert in ein anderes Reagenzglas und erhitzt bis zum Aufsteigen von Blasen. Nun gibt man einige Tropfen Ammoniummolybdat hinzu. Es tritt Gelbfärbung ein. Nach Erwärmung und längerem Stehen bildet sich ein Niederschlag von Ammoniumphosphormolybdat.

Löslichkeit des Lezithins. Ein linsengrosses Stück Lezithin wird in 5 ccm. Alkohol gelöst. Dieselbe Probe wird mit Aether ausgeführt. Zur alkoholischen Lösung von Lezithin gibt man H_2O . Es kommt eine weisse Emulsion zustande.

Abspaltung von Trimethylamin. Ein linsengrosses Stück Lezithin wird mit 5 ccm. $NaOH$ versetzt und solange erhitzt, bis das Lezithin gleichmässig verteilt ist. Es entsteigen Dämpfe, die einen charakteristischen Geruch haben, alkalisch reagieren (Lackmus!): und für Trimethylamin charakteristisch sind.

Cholesterin.

Löslichkeit des Cholesterins. Man gibt eine Spur Cholesterin in etwas H_2O . Es löst sich nicht, auch nicht beim Erhitzen. Nun erwärmt man 2 ccm. absol. Alkohol und fügt etwas Cholesterin hinzu: das Cholesterin löst sich vollständig. Dieselbe Probe wird mit Aether ausgeführt.

Mikroskopische Betrachtung von Cholesterinkristallen. Man sättigt einige ccm. heissen Alkohols mit Cholesterin und bringt die beim Erkalten ausfallenden Kristalle mit Hilfe einer langen Kapillarpipette auf einen Objektträger. Man sieht bei mikroskopischer Betrachtung die charakteristischen tafelförmigen dünnen Cholesterinkristalle.

Reaktionen des Cholesterins. Siehe Verworn IV, S. 47 u. 48.

Darstellung des Cholesterins aus Gallensteinen. Man verreibt 2 g Gallensteine in einer Reibschale, übergiesst mit 30 ccm. Aether und verreibt nochmals. Dann wird durch ein trockenes Filter filtriert und in einer trockenen Porzellanschale aufgefangen. Nach dem Verdunsten des Aethers scheiden sich Kristalle aus, die mit dem Mikroskop betrachtet werden.

Einfluss der Reize.

Einfluss der Temperatur auf die Schlagzahl des Froschherzens. Siehe Verworn IV, S. 102.

Einfluss der osmotischen Reize auf das zentrale Nervensystem. Einem Frosch werden 2 ccm. physiol. *NaCl*-Lösung mit Hilfe einer Pravaz'schen Spritze in den Rückenlymphsack injiziert. Einem anderen Frosch werden 2 ccm. einer konzentrierten *NaCl*-Lösung in den Rückenlymphsack injiziert. Der erste Frosch zeigt in seinem Verhalten nichts Abnormes. Der zweite Frosch zeigt bald nach der Injektion erhöhte Erregbarkeit, was in spontanen tonischen Krampfstellungen der Extremitäten und des Rumpfes zum Ausdruck kommt. Namentlich ist das der Fall, wenn man den Frosch berührt oder an den hinteren Ex-

tremitäten kneift. Nach einigen Minuten macht sich die beginnende Lähmung bemerkbar. Der Frosch reagiert auf Berührung weniger lebhaft. Legt man ihn auf den Rücken, so kann er sich selbst nicht mehr in die normale Lage bringen. Nach etwa 10—15 Minuten geht das Tier zugrunde.

Herstellung eines Nervmuskelpreparats. Siehe Verworn IV, S. 149—154.

Mechanische Reizung des Nerven. Siehe Verworn IV, S. 204. Nicht an der Anbindungsstelle quetschen, sondern etwa 1 cm. peripherwärts. Dann soll ein zweites Mal nahe an der Anbindungsstelle gereizt werden. Man überzeugt sich, dass die zweite Reizung unwirksam bleibt. Die erste mechanische Reizung hat den Nerven an der betreffenden Stelle lädiert und für die von oben kommende Erregung unwegsam gemacht.

Thermische Reizung des Nerven. Siehe Verworn IV, S. 204. Zuerst wird der Nerv mit einem nicht erwärmten Glasstab berührt. Man überzeugt sich, dass diese Berührung unwirksam ist. Dann wird mit dem erwärmten Glasstab gereizt u. s. w. Die mechanische und thermische Reizung können an ein und demselben Präparat ausgeführt werden.

Osmotische Reizung des Nerven. Man legt den Nerven eines Nervmuskelpreparats auf einen Objektträger, der horizontal an einem Stativ befestigt ist. Dann bringt man in der Nähe der Anbindungsstelle etwas Kochsalz auf den Nerven. Man sieht, dass der Schenkel bald eine Reihe von Zuckungen ausführt. Jetzt bindet man den Nerven peripher von der osmotisch gereizten Stelle ab und schneidet den zentralen lädierten Teil des Nerven weg. Nun lässt man das Präparat einige Zeit stehen und beobachtet

die Folgen der Eintrocknung des Nerven. Gewöhnlich kann man dabei schon nach wenigen Minuten Zuckungen am Schenkel beobachten. Nach etwa 10 Minuten kann man sich überzeugen, dass der Nerv unerregbar geworden ist: wenn man ihn nahe an der Anbindungsstelle mechanisch reizt, so bleibt eine Zuckung aus. Nun befeuchtet man den Nerven mit Hilfe eines weichen Pinsels mit physiologischer *NaCl*-Lösung und überzeugt sich, dass er schon nach 1—2 Minuten seine Erregbarkeit wiedergewinnt.

Elektrische Reize. Siehe Verworn IV, S. 154—158.

Die polaren Wirkungen des elektrischen Stromes. Siehe Verworn IV, S. 184, 185.

Tropische Bewegungen.

Negative Geotaxis. In ein kleines Reagenzglas bringt man ca 1—2 ccm. Kulturflüssigkeit und überschichtet mit Leitungswasser bis zum Rande. Nach etwa 30 Min. sammeln sich die Paramaezien oder Kolpidien im obersten Teil des Reagenzglases.

Um zu zeigen, dass es sich nicht um eine positive Chemotaxis zum O_2 der Luft handelt, verfährt man in folgender Weise. Man verschliesst die obere Oeffnung des Reagenzglases luftdicht mit dem Zeigefinger der rechten Hand und stellt das Reagenzglas in eine Schale mit Leitungswasser. Das Reagenzglas wird mit Hilfe eines Stativs festgehalten. Nach einiger Zeit sammeln sich die Paramaezien wiederum in dem oberen Ende des Reagenzglases.

Galvanotaxis. Siehe Verworn IV, S. 33—35.

Chemotaxis. Auf einer Glasplatte breitet man einen grossen Tropfen paramaezienhaltiger Flüssigkeit

aus, die durch negative Geotaxis gereinigt wurde. Die Glasplatte, in deren Mitte ein weisser Ring abgegrenzt ist, wird auf schwarzes Glanzpapier gelegt. Nun bringt man mit Hilfe einer Kapillarpipette einen kleinen Tropfen 0,001^o/_o H_2SO_4 auf die weiss umgrenzte Stelle und beobachtet mit der Präparierlupe. Nach etwa fünf Minuten haben sich die Paramäzieren alle im Säuretropfen gesammelt.

Ein zweiter Versuch wird in derselben Weise mit 0,01^o/_o H_2SO_4 ausgeführt. Die Paramäzieren verlassen die Säure und sammeln sich in Form eines Ringes um den Tropfen, d. h. dort, wo durch Diffusion der stärkeren Säure in das Wasser eine Zone verdünnter Säure entstanden ist.

Energieproduktion.

Wärmeproduktion bei Homiothermen und Poikilothermen. In eine Flasche, deren Stopfen mit einer Glasröhre und einem Thermometer versehen ist, wird eine Maus gebracht. In eine gleich grosse Flasche werden vier Frösche gebracht, die sich schon einige Zeit im Zimmer aufgehhalten und die Temperatur des Zimmers angenommen haben. Beide Flaschen, ebenso eine dritte leere Flasche, werden in eine Holzkiste gestellt und durch Holzwohle isoliert. Man notiert die Zeit und die Temperatur. Die T^0 ist zunächst in allen drei Flaschen gleich. Nach einigen Stunden ist die Temperatur in der Flasche, in der sich die Maus befindet, um einige Grad höher als in der leeren Flasche; in der Flasche dagegen, in der sich die Frösche befinden, ist die Temperatur bloss um einige Zehntelgrad höher als in der leeren Flasche.

Reizung durch den Demarkationsstrom (Galvani's Versuch). Man stellt ein Gastrocnemiuspräparat her, wobei man den N. ischiadicus mit sehr grosser Vorsicht präpariert, d. h. ihn nicht unnötig zu schädigen sucht. Dann wird der Gastrocnemius mit einer scharfen Schere quer durchschnitten. Man legt nun den Nerven in der Weise auf den Muskel auf, dass der Nerv sowohl die unverletzte Oberfläche, als den Muskelquerschnitt berührt. Man hantiert am Nerven, dessen Fadenende quer durchschnitten wird, mit Hilfe eines dünnen Glasstäbchens. Sobald die Anordnung hergestellt ist, d. h. sobald der Nerv gleichzeitig unverletzte Oberfläche und Querschnitt des Muskels berührt, zuckt der Muskel. Unterbricht man den Kontakt von Muskel und Nerv, so zuckt der Muskel wieder. Man wiederholt mehrmals Schliessung und Oeffnung des Kontaktes. Der Muskelstrom geht durch den Nerven und der Muskel wird durch seinen eigenen Strom gereizt.

Sekundäre Zuckung. Siehe Verworn IV, S. 200.

Ostwald'sches Herz. Siehe Verworn IV, S. 196.

Ruhestrom, Aktionstrom etc. Siehe Verworn IV, Kap. Elektrizitätsproduktion.

Stoffwechsel.

Versuch mit Müller'schen Ventilen. Siehe Verworn IV, S. 62.

Untersuchung des Gaswechsels beim Meerschweinchen. Der Respirationsapparat wird zunächst aus den zugehörigen Teilen zusammengestellt. Die eingeatmete Luft soll durch konz. H_2SO_4 , Natronkalk und $Ba(OH)_2$ streichen, die ausgeatmete Luft durch

konz. H_2SO_4 und durch zwei Gefässe mit Natronkalk. Die Absorptionsgefässe für die ausgeatmete Luft müssen zuerst gewogen werden (bei geschlossenen Hähnen!). Zwischen dem letzten Absorptionsgefäss und der Aspirationsflasche wird ein Hg-Ventil eingeschaltet. Nachdem der Apparat zusammengestellt ist, wird geprüft, ob er bei dieser Anordnung vollkommen dicht ist. Man schliesst hierzu die Kammer, öffnet alle Hahnverbindungen, setzt die Aspirationsflasche in Gang und hält den angefeuchteten Zeigefinger vor die Eingangsöffnung des ersten Absorptionsgefässes. Alle Hähne werden nach dieser Prüfung wieder geschlossen. Nun wird die Respirationkammer aus der Verbindung gelöst, ein Meerschweinchen hineingesetzt und die Kammer mit dem Meerschweinchen gewogen. Die Kammer wird dann wieder mit dem Apparat verbunden und luftdicht verschlossen. Jetzt wird die Aspirationsflasche schnell in Gang gebracht und sofort alle Hähne geöffnet. Das Versuchstier bleibt eine Stunde in der Kammer. Darauf werden alle Hähne wieder geschlossen, die Kammer geöffnet und zusammen mit dem Versuchstier wieder gewogen. Man wägt dann die drei Absorptionsgefässe zwischen Kammer und Aspirationsflasche. Man hat auf diese Weise die gebildete CO_2 und das abgegebene HO_2 ermittelt. Der O_2 -Verbrauch wird berechnet, indem man von der Summe $CO_2 + H_2O$ den Gewichtsverlust des Tieres in Abzug bringt.

Man kann auch den respiratorischen Koeffizienten berechnen. Wir vergleichen dabei Gasvolumina. Da nun das Gewicht gleicher Volumina CO_2 und O_2 sich verhält wie 44:32, so ergibt sich der respiratorische Quotient, wenn man den Bruch $\frac{gCO_2}{gO_2}$ mit dem Bruch $\frac{32}{44}$ multipliziert.

Temperaturregulierung.

Messung der Körpertemperatur. Man misst innerhalb 24 Stunden seine Körpertemperatur in der Achselhöhle mehrmals, und zwar vor dem Aufstehen, zu Beginn des Praktikums, nach demselben, nach dem Mittagessen, dann alle zwei Stunden bis zum Schlafengehen. Die gewonnenen Resultate werden am Tage nach dem Praktikum dem Assistenten übergeben und im nächsten Praktikum besprochen.

Das Verhalten der Körpertemperatur bei Poikilothermen bei wechselnder Aussentemperatur. Man misst mit Hilfe eines kleinen Thermometers die T^0 im Oesophagus beim Frosch. Dann wird der Frosch für 10 Minuten in warmes Wasser von 30^0 gesetzt und wiederum seine Temperatur gemessen. Darauf setzt man den Frosch für 10 Minuten in Eiswasser und misst wieder seine T^0 . Man überzeugt sich, dass der Frosch die T^0 seiner Umgebung annimmt.

Versagen der Temperaturregulierung. Siehe Verworn IV, S. 143—147.

Nachweis des Wärmeverbrauchs bei Verdunstung von H_2O . In zwei ganz gleiche Bechergläser wird die gleiche Menge von H_2O gebracht. In das eine wird ausserdem Oel gegossen, das auf der Oberfläche des H_2O schwimmt. Dann werden die beiden Bechergläser, die von Stativen gehalten werden und in die Thermometer hineinragen, in kochendes H_2O gesetzt. Das heisse Wasser muss zuerst gründlich mit einem dicken Glasstab gerührt werden, damit es ganz gleichmässig erwärmt ist. Man überzeugt sich, dass die T^0 in dem mit Oel beschickten Becherglas höher ansteigt als in dem bloss mit H_2O beschickten. Ein Teil der Wärme, die dem H_2O dieses Glases mitgeteilt

wurde, ist bei der Verdunstung verbraucht worden, während in dem anderen Glase die Verdunstung durch die Oelschicht verhindert wurde.

Blut und Lymphe.

Mikroskopische Betrachtung des Blutes. Siehe Verworn IV, S. 80—82.

Zählung der Blutkörperchen. Siehe Verworn IV. S. 82—84.

Haemolyse. Siehe Verworn IV, S. 85.

Der Versuch wird auch mit destilliertem H_2O ausgeführt: man gibt zu 1 ccm Blut ca 5 ccm destilliertes H_2O und überzeugt sich, dass das Blut jetzt durchsichtig ist. Um dem Einwand zu begegnen, das Blut sei infolge der Verdünnung durchsichtig geworden, fügt man zu 1 ccm Blut 5 ccm physiolog. $NaCl$ -Lösung hinzu. Das Blut bleibt trotz der Verdünnung deckfarbig.

Das Hämoglobin. Siehe Verworn IV. S. 86—92.

Zu Seite 86: Um sich zu überzeugen, dass es sich um eine Reduktion des Hämoglobins handelt und nicht um einen Vorgang, der an die Lebenstätigkeit der roten Blutkörperchen geknüpft ist, führt man denselben Versuch mit hämolysiertem Blut aus. Man versetzt 5 ccm defibrinierten Blutes mit etwas Aether und schüttelt gut. Das hämolysierte Blut (Hämoglobinlösung!) wird nun mit etwas Schwefelammonium versetzt und gut geschüttelt. Nach einiger Zeit nimmt das hämolysierte Blut die dunkle Farbe des venösen Blutes an.

Venöswerden des Blutes beim Stehen. Man füllt ein Reagenzglas bis oben mit defibriniertem

Blut und lässt bis zum nächsten Praktikum stehen. Man überzeugt sich, dass das Blut dunkel geworden ist. Die scharlachrote Farbe kehrt zurück, wenn man eine Probe des Blutes in einem Reagenzglas gut schüttelt.

Venöswerden des Blutes bei der Durchleitung von CO_2 . Man füllt Blut bis zu einer Höhe von etwa 8 cm in einen Glaszylinder und leitet CO_2 durch. Man überzeugt sich, dass das Blut nach einiger Zeit dunkel wird.

Zu Seite 91: **Umwandlung von Oxyhämoglobin in Kohlenoxydhämoglobin.** Man füllt einen Glaszylinder bis zu einer Höhe von 8 cm mit defibriniertem Blut und leitet Leuchtgas durch. Die Farbe des Blutes bleibt kirschrot.

Widerstandsfähigkeit des Kohlenoxydhämoglobins. Eine Probe aus dem vorigen Versuch wird in einem Reagenzglas mit Schwefelammonium versetzt und gut geschüttelt. Man überzeugt sich, dass die kirschrote Farbe bestehen bleibt.

Zu Seite 92: **Hämoglobinbestimmung nach Sahli.**

Gerinnung des Blutes. Siehe Verworn IV, S. 93.

Im Anschluss daran: **Mikroskopische Betrachtung des Gerinnsels.** Ein kleines Stückchen eines frischen Fibringerinnsels wird auf dem Objektträger mit einem Deckglas bedeckt und unter dem Mikroskop betrachtet. Man sieht die Fibrinfasern, zwischen denen rote Blutkörperchen liegen.

Nachweis, dass Fibrin Eiweissnatur besitzt. Man bringt in destilliertes Wasser ein kleines Stückchen Fibrin, gibt Millon'sches Reagens hinzu und kocht. Das Fibrin färbt sich dunkelrot.

Bildung von löslichem Alkalialbuminat aus Fibrin. Man übergießt ein Stückchen Fibrin mit Natronlauge und erwärmt. Das Fibrin löst sich unter Bil-

dung von Alkalialbuminat. Fügt man nun Essigsäure bis zur saueren Reaktion hinzu und erwärmt, so fällt das Fibrin wieder aus.

Die Reaktion des Serums. Man prüft die Reaktion des Serums mit Lackmuspapier. Man überzeugt sich von der schwach alkalischen Reaktion des Serums.

Eiweissproben mit Blutserum. Siehe **Verworn IV**, S. 94.

Ausfällung der Globuline durch CO_2 " " "

Aussalzen der Eiweissstoffe aus dem Serum. Man sättigt 20 ccm Serum mit Ammoniumsulfat in Substanz und filtriert. Man führt mit dem Filtrat die Heller'sche Probe aus. Das Filtrat erweist sich als frei von Eiweiss.

Vermehrte Lymphbildung bei Hyperämie und Schädigung der Gefässwände. Einem weissen Kaninchen wird ein Gummiband oder ein enger Kautschukschlauch fest um die Basis des Ohres gebunden. Auf diese Weise wird die Zirkulation des Blutes im Ohre verhindert: das Blut kann wohl noch durch die Arterien eintreten, aber nicht durch die zusammengedrückten Venen abfließen. Das Blut staut sich im Ohre, das bald eine bläuliche Farbe annimmt. Nachdem das Gummiband fest geknüpft ist, wird das Ohr in warmes Wasser gehalten, dessen T^0 48^0 betragen muss. Um die T^0 auf dieser Höhe zu erhalten, muss immer wieder heisses Wasser nachgegossen werden. Das Ohr wird etwa 10 Minuten im warmen Wasser gehalten. Dann wird das Ohr abgetrocknet und die Schlinge gelöst. Das Ohr zeigt bald eine sehr starke Rötung infolge der Erweiterung der Arterien. Auch ist das Ohr wärmer als das normale. Nach etwa 1 bis 2 Stunden tritt eine starke Schwellung des Ohres ein, die noch viele Stunden bestehen bleibt,

auch wenn die Rötung schon geschwunden ist. Diese Schwellung muss darauf zurückgeführt werden, dass aus dem Blute Flüssigkeit ausgetreten ist, welche die Lymphspalten des umliegenden Gewebes erfüllt. Ein solcher Austritt einer abnormen Menge von Flüssigkeit aus dem Blut in die Lymphspalten konnte zustandekommen, weil die Wände der Blutgefäss durch die Störung des Kreislaufs und durch die hohe Temperatur geschädigt wurden. Dass eine Schädigung der Blutgefässwände vorhanden ist, ersieht man daraus, dass an vielen Stellen sich aus den Gefässen Blut in das umliegende Gewebe ergossen hat (Hämorrhagien).

Auch normalerweise findet ein Austausch von Flüssigkeit und gelösten Substanzen zwischen Lymphe und Blut statt.

Die Rötung, die Erwärmung, die Schwellung und der Schmerz (auf den wir aus dem Verhalten des Kaninchens schliessen dürfen) wurden von den alten Ärzten als die charakteristischen Kennzeichen der *Entzündung* betrachtet (rubor, calor, tumor, dolor).

Verdauung.

Katalyse von H_2O_2 durch Quecksilber. Man bringt in zwei trockene Reagenzgläser je einen Tropfen reines Quecksilber und übergiesst in einem mit ca. 10 ccm einer 1 $\frac{0}{10}$ Lösung von H_2O_2 , im anderen mit ca. 10 ccm Wasser. Im Reagenzglas mit H_2O_2 findet eine Gasentwicklung statt (aufsteigende Gasbläschen).

Stärkeverdauung im Munde. Man fertigt zunächst eine Stärkelösung an (eine reichliche Messerspitze Stärkepolver in 100 ccm Wasser, gekocht und erkaltet). Dann stellt man mit ca. 5 ccm der Lösung

die Trommer'sche Probe an, die negativ ausfällt. Darauf nimmt man einen Schluck Stärkelösung in den Mund. Nach etwa 2 Minuten wird der Schluck in ein Reagenzglas entleert und die Trommer'sche Probe gemacht. Sie fällt jetzt positiv aus.

Nachweis der schwach alkalischen Reaktion des Speichels. Man sammelt Speichel in einem Becherglas (vergl. Verworn IV, S. 38) und prüft seine Reaktion mit Lackmuspapier. Man überzeugt sich von der schwach alkalischen Reaktion des Speichels.

Stärkeverdauung im Reagenzglas. Man versetzt ca. 30 ccm Stärkelösung im Becherglas mit ca. 3 ccm frischen Speichels. Ferner versetzt man in Reagenzgläsern je 5 ccm Stärkelösung 1) mit 1 ccm frischen Speichels, 2) mit 1 ccm aufgekochten Speichels, 3) mit 1 ccm frischen Speichels und 2 Tropfen konz. *HCl*. Zu diesen drei Proben fügt man 2—3 Tropfen Jodjodkaliumlösung hinzu, die sie blau färbt. Man stellt das Becherglas und die Reagenzgläser in einen Thermostaten bei 38°. Alle 5 Minuten wird das Verhalten der Flüssigkeiten untersucht. Man überzeugt sich, dass die aufgekochte und angesäuerte Probe unverändert bleiben, während die nicht aufgekochte Probe allmählich die Farbe verändert: sie wird zunächst rotviolett (Erythrodextrin), um schliesslich farblos zu werden. Jetzt entnimmt man etwa 5 ccm aus dem Becherglas und führt die Trommer'sche Probe aus; wenn sie negativ ausfällt, so wird sie mit einer anderen Probe nach einiger Zeit wieder ausgeführt, bis sie schliesslich positiv ausfällt.

Herstellung eines künstlichen Magensaftes. Man kratzt mit einem scharfen Messer die Schleimhaut vom Fundus eines Schweinemagens ab, übergiesst mit verdünnter Salzsäure (1 ccm konz. *HCl*

auf 150 ccm H_2O) und lässt 24 Stunden in der Kälte stehen. Dann wird durch ein nicht zu breitmaschiges Koliertuch koliert.

Fibrinverdauung mit künstlichem Magensaft.

Eine gut gewaschene Fibrinflocke wird in einem Reagenzglas mit 10 ccm künstlichen Magensaftes übergossen. Eine andere Fibrinflocke wird mit 10 ccm künstlichen Magensaftes übergossen, der vorher aufgeköcht wurde. Man bringt die beiden Proben in den Thermostaten. Man beobachtet von Zeit zu Zeit das Verhalten der beiden Proben und überzeugt sich, dass die Fibrinflocke in beiden Proben aufquillt und vom Rande her durchsichtig wird. Nach einiger Zeit löst sich die Fibrinflocke in dem nicht aufgeköchten Magensaft, während sie in dem aufgeköchten erhalten bleibt.

Bedingungen der Eiweissverdauung durch Magensaft. Siehe Verworn IV, S. 41. Mit der Probe IV werden die Biuretprobe und die Millon'sche Probe auf Eiweiss angestellt.

Differenzierung von nativem Eiweiss und Peptonen. Die Proben von verdautem Fibrin aus dem Versuch „Fibrinverdauung mit künstlichem Magensaft“ werden in einem grossen Erlenmeyer'schen Kolben gesammelt und bis zum nächsten Praktikum im Thermostaten stehen gelassen. Mit diesem Material werden die auf Seite 8 erwähnten Eiweissreaktionen ausgeführt.

Dialyse der peptischen Verdauungsprodukte. Ein kleiner Dialysator wird mit dem Verdauungsgemisch (siehe vorigen Versuch) gefüllt. Nach einiger Zeit lassen sich Peptone im Aussenwasser nachweisen.

Kaseinfällung durch Magensaft. Man neutralisiert 5 ccm künstlichen Magensaftes, indem man vorsichtig (tropfenweise) Natriumcarbonat hinzufügt.

2 ccm des neutralisierten Magensaftes werden in einem Reagenzglas zu 5 ccm frischer Milch gegeben. 2 ccm des neutralisierten Magensaftes werden in einem zweiten Reagenzglas zuerst aufgekocht und dann zu 5 ccm frischer Milch gegeben. Beide Reagenzgläser werden dann in den Thermostaten gestellt. Nach 5—10 Minuten tritt in dem ersten Reagenzglas Gerinnung ein, während die Milch in dem zweiten Reagenzglas unverändert bleibt.

Chemische Untersuchung des Magensaftes.

Nachweis der freien Salzsäure im Magensaft:

- 1) *Methylviolett-Probe.* Zu einer Probe von natürlichem Magensaft gibt man einige Tropfen einer violetten Lösung von Methylviolett (0,5:1000). Es tritt stahlblaue Färbung ein.
- 2) *Congorot-Probe.* Man prüft den Magensaft mit rotem Congopapier: das Papier wird stahlblau gefärbt.
- 3) *Probe mit Günzburgs Reagens.* Auf eine kleine Porzellanschale (Tiegeldeckel) lässt man einige Tropfen Magensaft und dann einen Tropfen Günzburgsches Reagens fallen (Günzburgsches Reagens: 1 g Vanillin und 2 g Phloroglucin in 100 ccm Alkohol). Dann wird über einer kleinen Flamme vorsichtig verdampft. Am Rande der Flüssigkeit bilden sich purpurrote Streifen. Die Günzburgsche Probe wird nun mit 0,5% Milchsäure gemacht. Sie fällt negativ aus.

Nachweis der Milchsäure:

Zu 10 ccm. einer 2% Phenollösung gibt man 3 Tropfen Ferrichloridlösung (Uffelmann'sches Reagens). Man gibt einen Tropfen verdünnter HCl hinzu: die Lösung wird entfärbt. Nun gibt man zur

Lösung 1—2 ccm Milchsäure (0,8 g in 100 ccm H_2O): es tritt zitronengelbe Färbung ein.

Eiweissverdauung durch Pankreassaft. Frisches Pankreas wird fein zerhackt und mit verdünnter Natronlauge neutralisiert. Das Pankreas wird mehrere Tage unter Toluol stehen gelassen. Es geht in Lösung. Die Eiweisslösung gibt die Biuretreaktion. Unter dem Einfluss des Trypsins des Pankreas sind auch Aminosäuren abgespalten worden. Mit Bromwasser kann Tryptophan nachgewiesen werden: Rot bis Violettfärbung. Dann werden 20 ccm der Lösung mit Ammoniumsulfat in Substanz versetzt und filtriert. Man überzeugt sich mit Hilfe der Phosphorwolframsäureprobe, dass das Filtrat kein Eiweiss und keine Peptone enthält. Darauf wird mit einer Probe des Filtrats die Millon'sche Reaktion gemacht, die positiv ausfällt: es ist also freies Tyrosin vorhanden. Eine andere Probe des Filtrats wird in einem Uhrsälchen eingedampft. Es kristallisieren Tyrosin und Leucin aus.

Bedingungen der Eiweissverdauung durch Trypsin. Eine reichliche Messerspitze käuflichen Trypsins wird in 100 ccm H_2O gelöst. Dann bringt man in vier Reagenzgläser Fibrinflocken und in drei von den Reagenzgläsern je 3 ccm der Trypsinlösung und gibt hinzu: zu I, das nur Fibrin enthält, 3 ccm H_2O und Natronlauge bis zu schwach alkalischer Reaktion, zu II und III einige Tropfen Natronlauge, zu IV einige Tropfen Säure bis zu deutlich saurer Reaktion. III wird vorher aufgekocht. Alle vier Reagenzgläser werden in den Thermostaten bei 37° gestellt. Nur in II tritt Verdauung ein.

Fettverdauung durch Pankreas. 10 g frisches Pankreas werden zerhackt und mit Sand verrieben.

Dann fügt man 100 ccm H_2O hinzu, schüttelt gut und koliert. Man bewahrt die trübe Flüssigkeit unter Toluol auf. 5 ccm der Flüssigkeit werden in ein Reagenzglas gebracht und mit einigen Tropfen Phenolphthalein versetzt. Wenn die Reaktion sauer oder neutral ist, muss Natronlauge bis zur schwach alkalischen Reaktion hinzugefügt werden. Dann wird etwa $\frac{1}{2}$ ccm eines neutralen Öles hinzugegeben und gut geschüttelt. Das Gemisch wird in den Thermostaten gestellt. Man überzeugt sich, dass die Flüssigkeit nach einiger Zeit entfärbt wird: die Reaktion ist infolge der abgespaltenen Fettsäuren sauer geworden.

Stärkeverdauung durch Pankreas. 5 ccm des wässrigen Pankreasextraktes aus dem vorigen Versuch werden mit der gleichen Menge Stärkelösung versetzt, geschüttelt und in den Thermostaten gestellt. Nach einiger Zeit wird mit einem Teil der Flüssigkeit die Trommer'sche Reaktion angestellt.

Untersuchung der Milch	} Siehe Verworn IV, S. 33—59.
Untersuchung der Galle	
Darmperistaltik	

Atmung.

Siehe Verworn IV, S. 60—80.

Zu Seite 71: Der Gummistopfen der Flasche soll mit drei Öffnungen versehen sein. Durch die eine Öffnung wird die Flasche mit einem Hg. Manometer verbunden.

Im Anschluss an den Versuch mit dem Lungenmodell:

Nachweis der Residualluft in der Lunge. Man schneidet die Lunge unten an der Trachea ab und wirft sie in ein Gefäß mit Wasser. Die Lunge schwimmt auf der Wasseroberfläche. Nun drückt man

die Lunge mit der Hand zusammen und legt sie wieder ins Wasser: sie fällt nicht zu Boden. Dann zerschneidet man die Lunge in kleine Stückchen, die ebenfalls nicht zu Boden sinken. Dieses Verhalten beruht auf dem Vorhandensein von Luft in den Lungenbläschen, die auch bei maximaler Expiration in ihnen zurückbleibt (Residualluft).

Beispiel eines Oxydationsfermentes. Man gibt in ein Reagenzglas 1 ccm frisch bereiteter Guajaktinktur und 1 ccm altes Terpentinöl und mischt durch. Dann fügt man einen kleinen Tropfen Blut (in 10 ccm H_2O verteilt) hinzu. Die Lösung wird blau, indem die Guajaksäure zu Guajakblau oxydiert wird. In einem zweiten Reagenzglas gibt man zu 1 ccm Guajaktinktur ebenfalls einen kleinen Tropfen Blut (in 10 ccm H_2O verteilt). Es tritt keine Blaufärbung ein. Nun fügt man 1 ccm einer 3% H_2O_2 Lösung hinzu. Es tritt Blaufärbung ein. Im alten Terpentinöl sind augenscheinlich organische Peroxyde enthalten, die ähnlich dem H_2O_2 wirken. Das Hämoglobin fungiert als Peroxydase.

Zirkulation des Blutes.

Siehe Verworn IV, S. 99—124.

Harn.

Siehe Verworn IV, S. 129—138.

Bestimmung des Gesamtstickstoffs nach Kjeldahl.

5 ccm Harn werden mit Hilfe einer Messpipette in einen Kolben gebracht, der ca 500 ccm fasst. Man fügt 10 ccm. konz. H_2SO_4 hinzu. Dann bringt man eine geringe Menge Kupfersulfat und Kaliumsulfat in die Mischung. Man erhitzt unter dem Abzug. Der

Kolben soll dabei schräg stehen. Man erhitzt so lange, bis die Mischung vollständig entfärbt oder nur leicht blau gefärbt ist (vom CuSO_4). Man lässt erkalten, fügt 200 ccm H_2O und dann einige Esslöffel Talcum hinzu. Unterdes hat man die Destilliervorrichtung gebrauchsfertig gemacht. In die Vorlage (Erlenmeyerkolben) hat man aus der Bürette 50 ccm $n/_{10}$ H_2SO_4 einfließen lassen und einige Tropfen Cochenille-Tinktur gebracht, die in der Säure gelbrot ist. Nun gibt man zur sauren Lösung 50 ccm 33⁰/₀iger NaOH und setzt *sofort* den Gummistopfen der Destilliervorrichtung auf. Die Flüssigkeit darf nur schwach sieden; durch das Talcum wird das Stossen vermieden. Man destilliert so lange, bis etwa die Hälfte der Flüssigkeit überdestilliert ist (etwa 20—30 Min). Um sich zu überzeugen, dass alles NH_3 übergegangen ist, löst man die Gummiverbindung über der Vorlage, fängt einen Tropfen des Destillats auf rotem Lackmuspapier auf und schliesst sofort wieder die Verbindung. Wenn das Lackmuspapier sich noch bläut, muss noch weiter destilliert werden. Ist alles NH_3 übergegangen, so löst man die Gummiverbindung und spült das in die Vorlage tauchende Rohr mit Hilfe der Spritzflasche aus. (Die Flamme darf erst verlöscht werden, nachdem das Rohr abgenommen wurde!)

Nun wird die Flüssigkeit in der Vorlage mit $n/_{10}$ NaOH zurücktitriert und ermittelt, wieviel ccm $n/_{10}$ H_2SO_4 durch das überdestillierte NH_3 neutralisiert worden sind. Die gefundene Zahl multipliziert mit 0,0014 gibt die Menge von N in 5 ccm. Harn an.

Bestimmung der Chloride im Harn. Man verdünnt 10 ccm Harn mit ca. 90 ccm H_2O und gibt einige ccm einer 10⁰/₀ Kaliumchromatlösung hinzu. Dann lässt man aus der Bürette unter ständigem

Schwenken $AgNO_3$ -Lösung in kleinen Portionen, zuletzt tropfenweise, hinzufliessen. Das $AgNO_3$ fällt zunächst alles Chlor; erst wenn alles Chlor ausgefällt ist, beginnt die Fällung des Chroms und es bildet sich ein rotbrauner Niederschlag von Silberchromat. Die Ausfällung des gesamten Chlors ist also erreicht, wenn der Niederschlag eine auch beim Umrühren bleibende rotbraune Färbung zeigt. Die Silbernitratlösung enthält 29,961 g im Liter; 1 ccm der Lösung enthält 0,029061 (rund 29 mg) $AgNO_3$. Das Molekulargewicht von $AgNO_3$ ist 169,89, das Molekulargewicht von $NaCl$ — 58,46. Es sind also 29,061 mg $AgNO_3$ 10 mg $NaCl$ aequimolekular. 1 ccm der Lösung entspricht auf diese Weise 10 mg $NaCl$. Die Zahl der verbrauchten ccm $AgNO_3$ -Lösung mit 10 multipliziert ergibt in mg die Menge von $NaCl$ in 10 ccm Harn.

Bewegung
Nervensystem
Sinnesorgane

} Siehe Verworn IV,
S. 158—243.

Est.

A-10798

16132