

Ueber ein neues Verfahren, kleinere anatomische Objecte zum Zwecke der Demonstration dauernd zu fixiren und ohne Anwendung von Alcohol zu conserviren.

Von

Dr. Leo Gerlach
Prosector und Privatdocent.

(Vorgetragen am 1. August 1881).

Klebs hat im Jahre 1869 den Glycerinleim in die mikroskopische Technik eingeführt, indem er denselben sowohl zum Einbetten von Organstücken behufs Anfertigung von Schnitten, als zum Einschliessen der Schnitte selbst unter dem Deckgläschen auf das Beste empfahl¹⁾. Seitdem hat sich dieses Mittel einer steigenden Beliebtheit von Seiten der Mikroskopiker zu erfreuen gehabt und sich immer mehr in den histologischen Laboratorien eingebürgert. Bereits mehrere Jahre lang lasse ich in meinen Cursen die in Glycerin aufzubewahrenden Schnitte nicht mehr in reines Glycerin, sondern in Leimglycerin einlegen, und habe die Erfahrung gemacht, dass die so angefertigten Präparate, deren Herstellung auch dem weniger Geschickten nicht die geringste Schwierigkeit verursacht, eine Dauerhaftigkeit besitzen, wie sie den in reines Glycerin eingeschlossenen Objecten nicht im Entferntesten zukommt.

Die vielfache Benutzung des Glycerinleims bei mikroskopischen Untersuchungen brachte mich auf den Gedanken, zu versuchen, ob derselbe nicht auch für makroskopische Präparate als Einschluss- und Conservierungsmittel dienen können. Ich habe in Folge dessen im Laufe der letzten Jahre eine Reihe von Versuchen angestellt, welche darauf gerichtet waren, eine für besagte Zwecke geeignete Zusammensetzung des Glycerinleims ausfindig zu machen. Der Lösung dieser Aufgabe stellten

1) Klebs, Die Einschmelzungsmethode, ein Beitrag zur mikroskopischen Technik. Arch. für mikroskop. Anatomie Bd. V pag. 164.

sich, wie aus Folgendem erhellt, mannigfache Schwierigkeiten entgegen.

In dem Klebs'schen Glycerinleim, welcher zur Hälfte aus einer concentrirten Hausenblasenlösung, zur Hälfte aus reinem Glycerin besteht, werden die eingelegten Präparate zu durchsichtig und beginnen noch ehe die Masse erstarrt ist, zu schrumpfen. Um beides möglichst zu vermeiden, musste das Glycerin in der Mischung verringert und damit deren Wassergehalt vermehrt werden. Der letztere darf aber wiederum nicht ein gewisses Mass überschreiten, weil sonst die Fähigkeit der Mischung zu gelatiniren zu sehr herabgesetzt, sowie auch die Temperatur, bei welcher die erstarrte Masse wieder sich verflüssigt, eine zu niedere werden würde. So wäre bei einem zu grossen Wassergehalt der Mischung schon die Temperatur eines heissen Sommertages hinreichend, um die gelatinirte Masse, in welche die Präparate eingeschlossen sind, wieder in den flüssigen Aggregatzustand überzuführen. Diese Uebelstände, welche ein zu hoher Wassergehalt des Glycerinleimgemenges zur Folge hat, würden sich zwar durch einen grösseren Zusatz von Gelatine beseitigen lassen; allein dies kann wiederum nur auf Kosten der Klarheit und Durchsichtigkeit der Mischung geschehen, welche sich immer mehr verringern, je mehr man der Mischung Gelatine beifügt. Hier sei bemerkt, dass selbst bei Verwendung der besten Gelatinesorten und trotz mehrfacher Klärungsversuche niemals ein vollkommen wasserheller Glycerinleim erhalten werden konnte; immer hatte derselbe einen leichten Stich ins Gelbliche. Dies ist leider eine Unannehmlichkeit, über die man nicht hinwegkommt; beim Einschliessen von kleineren Objecten kommt dieselbe jedoch nicht in Betracht, da hiebei der Glycerinleim nur in einer Schichte von höchstens 2 Ctm. Dicke das Object allseitig umgiebt und darum der Beschauer den nur schwach gelblichen Farbenton nicht gewahren wird. Bei grösserer Dicke macht sich dagegen schon mehr die gelbliche Farbe bemerklich, welche um so störender auffällt, je voluminöser die Leimglycerinmasse ist, welche das Object deckt. Aus diesem Grunde glaube ich auch nicht, dass der Glycerinleim zum Aufbewahren grösserer Präparate zweckdienlich ist; in solchen Fällen wird nach wie vor der Alcohol den Vorzug verdienen.

Aus dem Gesagten geht hervor, dass der Glycerinleim nur dann zum Einschliessen und Conserviren kleinerer Präparate mit

Vorthail Verwendung finden kann, wenn er folgende drei Anforderungen erfüllt:

- 1) er muss genügend klar und durchsichtig sein,
- 2) in ihm dürfen die eingelegten Objecte weder aufgehell't werden, noch schrumpfen.
- 3) die Temperatur, bei der er sich verflüssigt, darf keine zu niedere sein.

Nach vielem Experimentiren glaube ich nun eine Mischung gefunden zu haben, welche obigen Bedingungen möglichst gerecht wird. Dieselbe besteht aus 40 Gramm Gelatine, 120 Cub.-Ctm. Glycerin und 200 Cubctm. Wasser. Hiezu wird als Antisepticum noch 1 Gramm Salicylsäure, in etwas Alcohol gelöst, zugesetzt.

Die Zubereitung dieser Mischung geschieht in der Weise, dass in ein hinreichend grosses Becherglas zuerst das Gelatine gebracht und auf dasselbe das Glycerin gegossen wird; hierauf wird in dem Wasserbad erwärmt, bis sich das Gelatine in dem Glycerin völlig oder wenigstens nahezu völlig gelöst hat, was über eine Stunde dauert. Sodann wird unter Umrühren das bezeichnete Quantum Wasser zugegossen und endlich die in etwas Alcohol gelöste Salicylsäure beigefügt. Um die Flüssigkeit zu klären, lässt man sie ein wenig erkalten und bringt dann in dieselbe das Eiweiss von 2 Eiern, welches hierauf durch nochmaliges starkes Erwärmen und unter fortgesetztem Umrühren zur Coagulation gebracht wird. Zum Schlusse wird das geronnene Eiweiss im Wärmeofen von der nun klar aber äusserst langsam ablaufenden Leimglycerinflüssigkeit abfiltrirt.

In der ersten Zeit habe ich bei der Anfertigung von Glycerinleimpräparaten kleine Glasgefässe von eckiger Form benützt, in welche ich die Objecte luftdicht einschloss. Später jedoch bin ich davon abgekommen, weil mir ein anderes Verfahren viel rationeller erschien. Dieses besteht darin, dass auch die makroskopischen Objecte nach Art der mikroskopischen behandelt werden, nur muss die Stelle des Objectträgers eine entsprechend grosse Glasplatte, die des Deckgläschen ein Uherschälchen vertreten, dessen Grösse sich natürlich gleichfalls nach der des Präparates richten muss. Auf diese Weise lassen sich schon verhältnissmässig umfangreiche Objecte in Leimglycerin aufheben, ohne dass sie von einer zu dicken Schichte desselben bedeckt werden. So habe ich z. B. kleine menschliche Embryonen von

2—3 Ctm. Kopfsteisslänge, ferner mehrere Exemplare von *Amphioxus lanceolatus*, deren Länge 5 Ctm. betrug in dem Glycerinleim aufbewahrt. Natürlich dürfen die Uhrschildchen nicht zu flach sein, sondern müssen eine der Dicke des Objectes äquivalente Tiefe haben. Bezüglich ihrer Grösse sei erwähnt, dass die kleinsten, welche ich verwendete, einen Durchmesser von 3 Ctm. die grössten einen solchen von 6—7 Ctm. besaßen. Unter die Schildchen können, wenn die Objecte klein sind, deren mehrere gebracht werden; so habe ich beispielsweise von jüngeren Froschlärven immer gleich mehrere und zwar in verschiedenen Stellungen zwischen Uhrschildchen und Glasplatte eingeschlossen.

Das Einlegen der Präparate erfordert begreiflicher Weise ganz andere Manipulationen, als bei histologischen Gegenständen. Ich benütze hiezu kleine mit rundlichen Ausschnitten versehene Brettchen, die an einem Gestelle so befestigt, dass sie einmal eine horizontale Lage einnehmen und dass ferner zwischen ihnen und der Tischplatte ein etwa Fuss hoher Raum bleibt. Die Grösse der rundlichen Einschnitte variirt nach der der einzelnen Uhrschildchen; jedoch sind erstere nicht ganz so gross wie letztere, so dass die Schildchen mit ihren Rändern die der Einschnitte um eine Kleinigkeit überragen und darum auf diese aufgesetzt werden können, wie eine Kochschale auf den entsprechend grossen Ring eines Wasserbades. Der Zweck der ganzen Vorrichtung besteht darin, dass die convexe nach abwärts gekehrte Fläche der Uhrschildchen von unten her zugänglich ist; man kann daher, wenn man die Präparate in dieselben einlegt, von unten her mittelst eines Spiegels controlliren, ob sie eine richtige Lage und Stellung haben.

Die meist aus dem Alcohol kommenden Objecte, welche in Glycerinleim aufgehoben werden sollten, habe ich zunächst in verdünntes Glycerin, (1 Theil Glycerin und 2 Theile Wasser) gelegt. Nach 1—2 stündigem Verweilen in dieser Flüssigkeit wird das einzubettende Präparat herausgenommen, auf Fliesspapier etwas abgetrocknet und auf den Boden eines passenden Uhrschildchens gebracht, welches sodann auf den Ausschnitt eines in der richtigen Weise befestigten Brettchens gestellt wird. Man giesst hierauf in das Schildchen eine vorerst nur geringe Menge von Glycerinleim, der beinahe bis zur Erstarrung abgekühlt sein muss, und bringt in demselben unter Beihülfe des Spiegels das Object in die gewünschte Lage, wobei darauf zu

achten ist, dass die wichtigen Stellen desselben nach unten gekehrt werden. Um nun das Präparat rasch zu fixiren, lässt man auf die convexe Fläche des Uhrschildchens von unten her einen Aetherspray einwirken. Ist die Gelatinirung erfolgt, so wird unter möglichster Vermeidung von Luftblasen in das Schildchen nochmals Glycerinleim eingegossen, und zwar so viel als irgend, ohne überzufließen, hineingeht; es muss schliesslich die Fläche des Glycerinleims noch um ein Minimum höher stehen, als die Ränder des Schildchens. Eine weitere Application des Aetherspray führt auch jetzt eine rasche Erstarrung der Masse herbei. Sodann wird das Uhrschildchen wieder unter möglichster Vermeidung von Luftblasen — auf eine entsprechend grosse Glasplatte aufgesetzt; natürlich muss nun die convexe Fläche nach oben gewendet sein. Die Ränder des Schildchens werden, falls die Füllung mit Glycerinleim eine vollständige war, noch nicht ganz auf der Glasplatte aufrufen. Ein vorsichtiges Erwärmen über der Spirituslampe bewirkt jedoch bald ein festes Aufschliessen der Ränder des Schildchens auf der Platte, indem der überflüssige Glycerinleim abfließt. Man kann jetzt dem Objecte durch Drehung des Schildchens eine beliebige Anordnung geben, muss aber dann rasch auf die untere Fläche der Glasplatte zum letzten Male den Aetherspray einwirken lassen, und damit eine schleunige Gelatinirung veranlassen. Der abgeflossene, ebenfalls erstarrte Glycerinleim, welcher die Glasplatte theilweise bedeckt, kann nun bis in die Nähe des Uhrschildchens durch Abschaben mit dem Messer leicht entfernt werden, worauf die Platte mit Fließpapier sorgfältig zu reinigen ist. Es ist anzurathen, alsdann das Präparat 1—2 Tage, wo möglich in kühler Temperatur liegen zu lassen, ehe man die letzte Hand an dasselbe legt, d. h. ehe man mit Asphalt- oder Bernsteinlack das Uhrschildchen umrahmt, und damit die eingebetteten Gegenstände gegen Luftzutritt schützt.

Die Herstellung der Präparate ist, wie man sieht, etwas umständlich; es lohnt sich daher, immer gleich mehrere auf ein Mal, resp. kurz hinter einander anzufertigen. Ihre Dauerhaftigkeit ist eine sehr zufriedenstellende. Sehr viele von meinen Präparaten, die nunmehr schon über 8 Monate alt sind, haben sich ganz unverändert erhalten. Bei einigen sind in den ersten Wochen Luftblasen eingedrungen, doch schiebe ich dies auf eine mangelhafte Verkittung mit Bernsteinlack; nachdem die betref-

fenden Präparate nochmals mit einem Lackrahmen versehen worden waren, haben sie sich seither nicht mehr verändert; die Luftblasen, welche noch dieselbe Stelle einnehmen, sind nicht grösser geworden, und da sie sich in einiger Entfernung von dem Objecte befinden, beeinträchtigen sie dessen Inspection in keiner Weise. Ich habe mir daraus eine Lehre gezogen und bei den in späterer Zeit gefertigten Präparaten zu wiederholten Malen den Lackrahmen erneuert.

Auf die grossen Vorzüge, welche die beschriebene Methode vor der üblichen Conservirung in Alcohol voraus hat, möchte ich noch kurz aufmerksam machen. Dieselben beruhen hauptsächlich auf zwei Punkten; 1) eignen sich die Glycerinleimpräparate bedeutend besser zur Demonstration, und 2) sind sie gegen äussere Insulte viel geschützter als die Spirituspräparate. Hinsichtlich des ersten Punktes bemerke ich, dass die letzteren, auch wenn sie in den geeignetsten Glasgefässen aufbewahrt werden, doch niemals mit solcher Bequemlichkeit durch die Lupe betrachtet werden können, als die nach meiner Methode gefertigten Glycerinleimpräparate. Ich lasse dieselben mit Lupen versehen in meinen Vorlesungen über Entwicklungsgeschichte unter den Zuhörern cursiren, so dass diese in den Stand gesetzt werden, die vorgezeigten Modelle und Abbildungen entwicklungsgeschichtlicher Gegenstände mit dem natürlichen Objecte zu vergleichen, was, wie ich glaube, für den Anschauungsunterricht ungemein werthvoll ist. So hat mir eine Anzahl von Glycerinleimpräparaten der verschiedensten Entwicklungsstadien von Säugethier- und Vogelebryonen, von Salamander- und Froschlarven etc. im vergangenen Wintersemester bei meinen embryologischen Vorlesungen vortreffliche Dienste gethan.

Als einen zweiten wesentlichen Vortheil der Glycerinleimpräparate glaube ich den Umstand hervorheben zu dürfen, dass dieselben bedeutend besser geschützt sind, als die Alcoholpräparate, deren Herumreichen im Auditorium immerhin mit einiger Gefahr verbunden ist; ein fortwährendes Schütteln des Alcohols, wie es bei solchen Gelegenheiten unvermeidlich ist, reicht ja zuweilen allein schon hin, ein in ihm frei bewegliches subtileres Präparat zu lädiren. Ausserdem ist der so häufig unvollkommene Verschluss der Gläser und die dadurch bedingte zeitweise Erneuerung des Alcohols mit einer Quelle von Schädlichkeiten für das Präparat selbst verbunden. Alle diese Uebelstände fallen

bei der Conservirung in Glycerinleim weg. Ist das Object einmal eingeschlossen, und die Masse erstarrt, so ist es gut und sicher aufgehoben. Das Präparat kann ohne jegliche Besorgniss herumgereicht werden, und auch wenn es dabei zu Boden fallen sollte, so ist für das Object selbst keine grosse Gefahr vorhanden, da es ja durch seine Gelatinehülle genügend geschützt wird. Man kann übrigens selbst gegen derartige Unfälle Vorsorge treffen, indem man die bei den Zuhörern cursirenden Präparate in flache Kästchen legt, deren Wände rundliche der Grösse der Uhrschildchen angepasste Ausschnitte besitzen. Dadurch wird die Gefahr des Zerbrechens der Gläser, falls das Präparat zu Boden fallen sollte, bedeutend verringert.

Als ich nach der beschriebenen Methode bereits eine beträchtliche Anzahl von Präparaten hergestellt hatte, ersah ich aus einer in dem ersten Bande des Zoologischen Jahresberichtes referirten Mittheilung Miali's ¹⁾, dass dieser ebenfalls schon den Glycerinleim zum Einschliessen von makroskopischen Objecten benutzt hatte. Derselbe gibt jedoch eine andere Vorschrift für die Bereitung der Einschlussmasse und ferner unterscheidet sich seine Art und Weise des Einlegens wesentlich von dem oben erörterten Verfahren.

Der Miali'sche Glycerinleim besteht aus:

- 75 Gramm Gelatine,
- 240 Cubctm. Glycerin,
- 720 Cubctm. Gesättigte Lösung von arseniger Säure,
- 120 Cubctm. Alcohol,
- 7,4 Cubctm. Essigsäure.

Diese Mischung ist mit Eiweiss zu klären; sie besitzt einen Schmelzpunkt von 98° Fahrenheit = 36,7° C.

Miali legt die zu conservirenden Objecte zuerst auf einige Stunden in eine Thymollösung [0,5% Thymol zu einer Mischung von 1 Thl. Wasser mit 2 Thl. Glycerin]. Hierauf wird das Präparat statt jeder anderen Befestigung auf dem Boden eines Gefässes, dem man durch Unterlegen von farbigen Gläsern, Wachs tafeln etc. eine geeignete Farbe geben kann, durch eine dünne Schichte von Glycerinleim angeklebt. Das Gefäss wird schliess-

1) Miali, L. C., Solid mounted Museum Preparations. [Sep.-Abdr. früher veröffentlicht in Nature. July 18. 1878; doch seither verbessert.] referirt in Zool. Jahresb. 1879 pag. 28.

lich bis zum Rande mit Glycerinleim gefüllt, und unter Ausschluss aller Luft durch Aufschieben einer seinem Rande gut anliegenden Glasplatte unter nachträglicher Verkittung mit Firniss fest verschlossen. Das Eingiessen der Glycerinleimlösung muss bei möglichst dem Erstarrungspuncte naher Temperatur geschehen; ist sie zu flüssig, so schwimmen die Objecte fort.

Nachdem ich die Miali'sche Composition des Glycerinleims kennen gelernt hatte, habe ich auch in diese Mischung, welcher ich noch etwas in Alcohol gelöste Salicylsäure zusetzte, eine Reihe von Objecte nach meiner Methode eingebettet und muss gestehen, dass die erhaltenen Präparate ebenfalls zu meiner vollkommenen Zufriedenheit ausfielen. Ich kann daher den Miali'schen Glycerinleim mindestens ebenso gut empfehlen, wie die von mir angegebene Zusammensetzung desselben. Ueber die Dauerhaftigkeit der in die Miali'sche Masse eingeschlossenen Präparate steht mir zwar wegen der Kürze der Zeit noch kein endgültiges Urtheil zu, doch glaube ich an deren Güte nicht zweifeln zu dürfen, da sie sich bereits mehrere Monate unverändert erhalten haben.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Sitzungsberichte der Physikalisch-Medizinischen Sozietät zu Erlangen](#)

Jahr/Year: 1878-1880

Band/Volume: [13](#)

Autor(en)/Author(s): Gerlach Leo

Artikel/Article: [Ueber ein neues Verfahren, kleinere anatomische Objecte zum Zwecke der Demonstration dauernd zu fixiren und ohne Anwendung von Alcohol zu conserviren. 55-62](#)