

ZB MED - Informationszentrum Lebenswissenschaften

Ernährung und Stoffwechselkrankheiten

Umber, Friedrich

Berlin [u.a.], 1925

ZB MED - Informationszentrum Lebenswissenschaften

Shelf Mark: Ui VI 1900

B. Blutzuckerbestimmungen.

[urn:nbn:de:hbz:38m:1-126153](https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:hbz:38m:1-126153)

4. Enteiweißung des Gesamtblutes nach Rolly und Oppermann¹⁾.

Erforderliche Reagenzien:

1. Eisenlösung = Ferrum oxydatum dialysatum liquidum 10 % duplex (Merck).
2. Mononatriumphosphatlösung = 1 Teil Mononatriumphosphat + 4 Teile Wasser.

Ausführung:

In ein hohes, etwa 150 cm³ fassendes Becherglas werden mit einer Auslaufpipette 10 cm³ Blut gemessen. Nachdem die Pipette völlig ausgelaufen ist, wird sie mit Wasser in ein 50-cm³-Meßkölbchen nachgespült und mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. In das Becherglas werden nun zu dem Blute aus einer genau geachten Bürette 25 cm³ Eisenlösung unter stetigem, emsigen Umrühren mit einem mit Gummischer versehenen Glasstab tropfenweise zugesetzt und gleichmäßig verrührt. Darauf werden aus dem Meßkölbchen die 50 cm³ Nachspülflüssigkeit schußweise unter dauerndem Rühren zugesetzt und die völlig gleichmäßige Mischung kurze Zeit stehen gelassen. Sodann werden aus der Bürette weitere 15 cm³ Eisenlösung wie oben zugesetzt und darauf aus einer zweiten Bürette tropfenweise unter ständigem Rühren soviel Mononatriumphosphatlösung zugelassen, bis das Gemenge breiig wird. Nun wird etwa 1 Minute stehen gelassen und dann wieder gerührt, bis das Gemenge wieder eine ganz gleichmäßige Konsistenz zeigt. Alsdann werden wieder tropfenweise und unter stetigem Rühren nochmals 10 cm³ Eisenlösung und darauf soviel Phosphatlösung zugesetzt, wie an einer Gesamtmenge von 10 cm³ Phosphatlösung noch fehlen. Die Mischung bleibt nun bedeckt oder im Eisschrank 10 Minuten stehen, dann saugt man sie mit einem Buchnerschen Filter ab. Wenn der Rückstand fast trocken ist, stellt man, um die Flüssigkeit völlig aus ihm auszupressen, eine in das Buchnersche Filter gerade hineinpassende Petri-Schale auf den Filterrückstand, und auf diese ein Gewicht, und fährt darauf noch einige Zeit mit dem Absaugen fort.

B. Blutzuckerbestimmungen.

1. Makroblutzuckerbestimmung nach Bertrand.

Prinzip: Das durch Reduktion Fehlingscher Lösung gebildete Kupferoxydul reduziert einen gewissen Teil einer Ferrisalzlösung zu

¹⁾ Rolly u. Oppermann, Bioch. Zeitschr. 1912, Bd. 48.

Ferrosalz. Die Menge des letzteren wird durch Titration mit Kaliumpermanganat bestimmt.

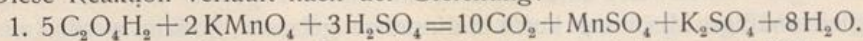
Erforderliche Reagenzien:

1. 40 g reinstes lufttrockenes Kupfersulfat werden zu 1 l mit Wasser gelöst.

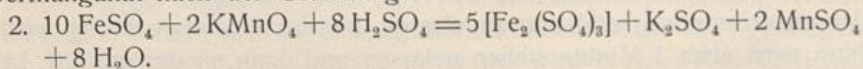
2. 200 g reines Seignettesalz (weinsaures Kaliumnatrium) und 150 g festes Natriumhydroxyd (in Stangen) werden im Meßkolben in destilliertem Wasser zu 1 l gelöst.

3. 50 g reines Ferrisulfat werden im Meßcylinder in etwa 200 cm³ Wasser gelöst. Andererseits werden 200 cm³ konzentrierte Schwefelsäure (spec. Gew. 1.84) mit etwa 400 cm³ Wasser verdünnt, indem man die Schwefelsäure sehr langsam in das Wasser einfließen läßt. Die abgekühlte Mischung wird zu der Lösung des Eisensalzes zugegeben und mit Wasser auf 1 l aufgefüllt.

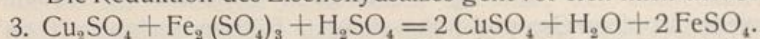
4. 5 g Kaliumpermanganat werden mit destilliertem Wasser zu 1 l aufgefüllt. Der Titer dieser Lösung wird gegen Oxalsäure eingestellt. Diese Reaktion verläuft nach der Gleichung:



Andererseits erfolgt die Oxydation des Eisenoxydulsalzes mit Kaliumpermanganat nach der Gleichung:



Die Reduktion des Eisenoxysalzes geht vor sich nach der Gleichung:



Aus diesen Gleichungen ergibt sich, daß ein Molekül Kaliumpermanganat in Reaktion tritt mit 5 Molekülen Eisenoxydulsalz (2) oder mit 5/2 Molekülen Oxalsäure (1). Andererseits entspricht 1 Molekül Eisenoxysalz 1 Molekül Kupfersulfat.

Da die Kaliumpermanganatlösungen ihren Titer ändern, verzichtet man darauf, Normallösungen herzustellen, sondern bereitet annähernde Normallösungen, deren Titer (d. h. Oxydationsvermögen) vor der Verwendung mit Oxalsäure festgestellt wird. Die Oxalsäure wird durch Kaliumpermanganat zu Kohlensäure und Wasser oxydiert. Zur Herstellung der n/10 Oxalsäure wiegt man 6.3024 reinste krystallisierte Oxalsäure pro analysi (Kahlbaum) genau ab und füllt mit Wasser auf 1 l auf. Diese Lösung ist 8 Monate haltbar. Zur Titerstellung der Kaliumpermanganatlösung verdünnt man 5 cm³ konzentrierte Schwefelsäure mit 10 cm³ Wasser, mißt 30 cm³ der n/10 Oxalsäure ab, fügt dazu 10 cm³ dieser verdünnten Schwefelsäure und füllt mit Wasser von 70° auf 200 cm³ auf. Die Mischung wird mit der Kaliumpermanganatlösung bis zur bleibenden Rosafärbung titriert. Es seien beispielsweise für diese

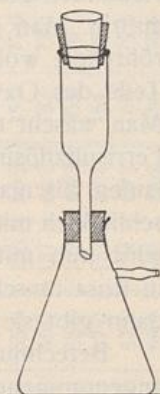
Titration 20 cm^3 Kaliumpermanganat verbraucht worden. Da nun $n/10$ Oxalsäure in 10 l nur $\frac{1}{2}$ Molekül Oxalsäure enthält, anderseits 1 Molekül Oxalsäure 2 Molekülen Fe-Oxydul, bzw. Cu entspricht, so wäre 1 cm^3 der $n/10$ Oxalsäure äquivalent einer Lösung von Eisenoxydul- oder Kupfersalz, die in 10 l 1 Molekül dieser Salze enthielte, d. h. 1 Molekül Oxalsäure entspräche 0.0056 Fe , bzw. 0.00636 Cu . Da nun zur Oxydation von 30 cm^3 $n/10$ Oxalsäure 20 cm^3 Kaliumpermanganat verbraucht wurden, so entspricht 1 cm^3 der Kaliumpermanganatlösung 1.5 cm^3 der $n/10$ Oxalsäure $= 0.0084\text{ Fe} = 0.00954\text{ Cu}$.

5. Reagenzien zur Enteiweißung s. unter II., A., 4.

Ausführung: 10 cm^3 durch Zusatz von Kaliumoxalat (etwa 5—10 Tropfen einer 20% igen Lösung) ungerinnbar gemachten Blutes werden nach der unter II., A. 4, angegebenen Methode enteiweißt. Das Filtrat und je 20 cm^3 der Kupfersulfat- und Seignettesalzlösung werden mit der Pipette in einen Erlenmeyer-Kolben von etwa 150 cm^3 gegeben, dieser auf einem Drahtnetz zum Sieden erhitzt und genau 3 Minuten gelinde gekocht. Man läßt nun das gebildete Kupferoxydul absitzen (je länger, desto besser), die überstehende Flüssigkeit muß noch blau gefärbt sein, sonst ist die Bestimmung mit einer geringeren Blutmenge zu wiederholen.

Anderseits hat man ein Saugfläschchen mit einem mit Asbest armierten Filterröhrchen versehen (s. Abb. 53); es genügt eine 2 mm dicke Schicht ganz feinen Asbests. Man gießt nun unter gelindem Saugen mit der Wasserstrahlpumpe die über dem Niederschlag befindliche blaue Flüssigkeit durch das Asbestfilter und wäscht den im Kolben zurückgebliebenen Niederschlag noch 2mal mit destilliertem Wasser nach, läßt schnell absitzen und gießt die überstehende Flüssigkeit wieder durch das Asbestfilter. Wenn etwas Kupferoxydul, das ja vom Asbest zurückgehalten wird, beim Dekantieren mitgeht, schadet es nichts; es ist aber darauf zu achten, daß das möglichst wenig geschieht. Um eine Reoxydation des Kupferoxyduls durch den Sauerstoff der Luft zu verhindern, ist peinlichst darauf zu achten, daß sowohl der Kupferoxydulniederschlag in dem Kolben als auch der etwa auf das Asbest gekommene, stets von Flüssigkeit bedeckt ist und also mit der Luft nicht in Berührung kommt. Um den Niederschlag beim Dekantieren möglichst wenig aufzurühren, empfiehlt es sich, den Kolben nach dem Kochen in ein Schälchen mit Eis in schräger Stellung über dem Filterröhrchen anzubringen, so daß er beim Dekantieren in der gleichen Richtung nur noch etwas mehr geneigt zu werden braucht. Bei einiger

Abb. 53.



Übung gelingt es so leicht, zu erreichen, daß erstens kein Niederschlag auf das Asbestfilter kommt, und daß der Niederschlag zweitens nicht mit der Luft kommuniziert, sondern entweder von der blauen Flüssigkeit oder dem zum Nachspülen verwendeten, schnell wieder hinzugesetzten Wasser bedeckt ist.

Die in der Saugflasche filtrierte klare Lösung wird nun fortgegossen, die Flasche selbst mit Wasser gut ausgespült und das Filtrierröhrchen wieder daraufgesetzt. Zu dem Kupferoxydulniederschlag in dem Erlenmeyer-Kolben setzt man etwa 20 cm^3 der Ferrisulfatlösung, wobei eine Reduktion des Ferrisulfats, kenntlich durch die grüne Färbung der Lösung, auftritt. Man gießt diese Lösung nun an einem Glasstabe in das Filtrierröhrchen, wobei auch die etwa schon beim Dekantieren hineingelangten Teile des Oxyduls gelöst werden, und saugt langsam in die Flasche. Man wäscht den Erlenmeyer-Kolben mit einigen Kubikzentimetern der Ferrisulfatlösung nach und läßt diese ebenfalls durch das Filter hindurchlaufen, bis man annehmen kann, daß alles Oxydul gelöst ist, und wäscht schließlich mit etwas Wasser nach. Die in der Flasche befindliche Lösung wird nun mit Kaliumpermanganat titriert, bis die grüne Farbe gerade in Rosa umschlägt. Es ist wichtig, bei der Methode schnell zu arbeiten dann gibt sie vorzügliche Resultate.

Berechnung: Nach den obigen Ausführungen entsprach 1 cm^3 der angenommenen Kaliumpermanganatlösung 9.54 mg Kupfer. Zur Titration seien von dieser Lösung (jede neu angefertigte Permanganatlösung muß nach der oben angegebenen Methode eingestellt und berechnet werden) 7.3 cm^3 verbraucht worden, die $9.54 \text{ mal } 7.3 = 69.9\text{ mg}$ Kupfer entsprechen würden. Aus der nebenstehenden Tabelle nach Allihn ergibt sich, daß 69 mg Kupfer 35.3 mg Zucker entsprechen, 70 mg Kupfer aber 35.8 mg Zucker; durch Interpolation ergibt sich der gesuchte Zuckerwert unserer Lösung zu 35.75 mg . Durch Multiplikation mit 10 errechnet sich der prozentuale Zuckergehalt des untersuchten Blutes in Milligrammen.

Die Bertrandsche Methode gibt die besten Werte, bei einer Zuckerkonzentration von höchstens 0.5% ; stärkere Lösungen, die ja beim Blut nur selten angetroffen werden, sind daher entsprechend zu verdünnen, bzw. die halbe Menge Blut zu verarbeiten.

2. Mikrozuckerbestimmung nach Bang¹⁾.

Prinzip: Das Kupferoxyd wird durch den Traubenzucker zu Kupferoxydul reduziert, dieses durch Jodsäure in saurer Lösung reoxydiert.

¹⁾ Bang, Bioch. Zeitschr., Bd. 87 u. 92.

Tabelle zur Ermittlung des Traubenzuckers aus dem Gewicht des Kupfers nach Allihn.

Kupfer	Traubenzucker	Kupfer	Traubenzucker	Kupfer	Traubenzucker	Kupfer	Traubenzucker	Kupfer	Traubenzucker	Kupfer	Traubenzucker	Kupfer	Traubenzucker	Kupfer	Traubenzucker	Kupfer	Traubenzucker	Kupfer	Traubenzucker	Kupfer	Traubenzucker	Kupfer	Traubenzucker
mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
10	6.1	31	16.5	52	26.9	73	37.3	94	47.9	115	58.6	136	69.3	157	80.1	178	91.1						
11	6.6	32	17.0	53	27.4	74	37.9	95	48.4	116	59.1	137	69.8	158	80.7	179	91.6						
12	7.1	33	17.5	54	27.9	75	38.3	96	48.9	117	59.6	138	70.3	159	81.1	180	92.1						
13	7.6	34	18.0	55	28.4	76	38.8	97	49.4	118	60.1	139	70.8	160	81.7	181	92.6						
14	8.1	35	18.5	56	28.8	77	39.3	98	49.9	119	60.6	140	71.3	161	82.2	182	93.1						
15	8.5	36	18.9	57	29.3	78	39.8	99	50.4	120	61.1	141	71.8	162	82.7	183	93.7						
16	9.0	37	19.4	58	29.8	79	40.3	100	50.9	121	61.6	142	72.3	163	83.3	184	94.1						
17	9.5	38	19.9	59	30.3	80	40.8	101	51.4	122	62.1	143	72.9	164	83.8	185	94.7						
18	10.0	39	20.4	60	30.8	81	41.3	102	51.9	123	62.6	144	73.4	165	84.3	186	95.2						
19	10.5	40	20.9	61	31.3	82	41.8	103	52.4	124	63.1	145	73.9	166	84.8	187	95.7						
20	11.0	41	21.4	62	31.8	83	42.3	104	52.9	125	63.7	146	74.4	167	85.3	188	96.3						
21	11.5	42	21.9	63	32.3	84	42.8	105	53.5	126	64.2	147	74.9	168	85.9	189	96.8						
22	12.0	43	22.4	64	32.8	85	43.4	106	54.0	127	64.7	148	75.5	169	86.4	190	97.3						
23	12.5	44	22.9	65	33.3	86	43.9	107	54.5	128	65.2	149	76.0	170	86.9	191	97.8						
24	13.0	45	23.4	66	33.8	87	44.4	108	55.0	129	65.7	150	76.5	171	87.4	192	98.4						
25	13.5	46	23.9	67	34.3	88	44.9	109	55.5	130	66.2	151	77.0	172	87.9	193	98.9						
26	14.0	47	24.4	68	34.8	89	45.4	110	56.0	131	66.7	152	77.5	173	88.5	194	99.4						
27	14.5	48	24.9	69	35.3	90	45.9	111	56.5	132	67.2	153	78.1	174	89.0	195	100.0						
28	15.0	49	25.4	70	35.8	91	46.4	112	57.0	133	67.7	154	78.6	175	89.5	196	100.5						
29	15.5	50	25.9	71	36.3	92	46.9	113	57.5	134	68.2	155	79.1	176	90.0	197	101.0						
30	16.0	51	26.4	72	36.8	93	47.4	114	58.0	135	68.8	156	79.6	177	90.5	198	101.5						

Die verbrauchte Jodatmenge wird aus der Differenz der angewandten und der mit Thiosulfat zurücktitrierten Jodmenge berechnet.

Erforderliche Reagenzien:

1. Salzlösung. KCl puriss. pro analysi (Kahlbaum) 400·0, Uranylacetat puriss. 3·0, 25 % ige Salzsäure 1·5 cm^3 , Kupfersulfat 0·8, Aq. dest. ad 2000 cm^3 . Alle diese Reagenzien müssen darauf untersucht werden, ob sie frei von reduzierenden Substanzen sind. Verunreinigungen haben wir besonders häufig beim Chlorkalium beobachtet¹⁾, das man eventuell mehrfach umkrystallisieren muß, um es hiervon zu befreien.

2. Jodsäurelösung. Kal. jodat. puriss. 0·3567, 20 % ige Schwefelsäure 10 cm^3 , Aqu. dest. ad 1000 cm^3 .

3. Alkalilösung. Kaliumcarbonat 75·0, Seignettesalz 20·0, Aq. dest. ad 1000 cm^3 .

4. 20 % ige Schwefelsäure.

5. 5 % ige Jodkalilösung.

6. Stärkelösung. Stärke 1·0, KCl puriss. 2·0, Aq. dest. ad 1000 cm^3 .

7. n/10 Thiosulfatlösung. 24·8 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ werden lufttrocken abgewogen und in 1-l-Meßkolben überführt. Etwas über 1 l destilliertes Wasser wird $\frac{1}{2}$ Stunde gekocht, der Kochkolben darauf unmittelbar verschlossen, erkalten gelassen und der 1-l-Kolben damit bis zur Marke aufgefüllt, sein Inhalt in einer schwarzen Flasche aufbewahrt. 2 Monate haltbar. In jeder Woche muß der Titer der Lösung mit Kaliumbichromatlösung kontrolliert werden. Zu diesem Zweck werden 20 cm^3 n/10 Kaliumbichromatlösung abgemessen, dazu ungefähr 20 cm^3 Wasser, 10 cm^3 konzentrierte Salzsäure und 10 cm^3 10 % ige wässrige Jodkalilösung zugefügt und ungefähr auf $\frac{1}{4}$ l aufgefüllt. Man titriert nunmehr mit der in der Bürette befindlichen Thiosulfatlösung, bis die anfangs stark braun gefärbte Flüssigkeit hell geworden ist, fügt dann einige Tropfen Stärkelösung zu und titriert weiter, bis die auf den Stärkezusatz entstandene Blaufärbung eben verschwunden ist und die Lösung eine grüne Farbe angenommen hat. Beim Zufügen eines Tropfen Bichromatlösung muß jetzt Blaufärbung auftreten, sonst ist die Bestimmung zu wiederholen. bzw. nochmals 5 cm^3 Bichromatlösung zuzugeben und zurückzutitrieren. 1 cm^3 der Thiosulfatlösung muß 1 cm^3 der Jodlösung genau entsprechen, da 1 cm^3 der Kaliumbichromatlösung auch 1 cm^3 einer n/10 Jodlösung äquivalent ist. Andernfalls ist die Konzentration der Thiosulfatlösung entsprechend zu ändern. Aus der n/10 Thiosulfatlösung wird vor der Ausführung jeder Bestimmung eine n/100 Lösung hergestellt, indem man 10 cm^3 derselben genau abmißt und im Meßkolben auf 100 cm^3 auffüllt.

¹⁾ Rosenberg, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1922, Bd. 92.

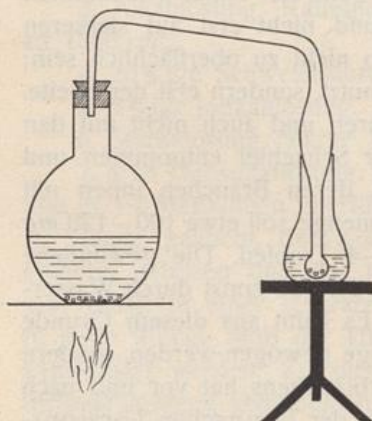
Ausführung: *a)* Blutentnahme. Durch einen Einstich in die Fingerbeere oder das Ohrläppchen mit dem Frankeschen Schnepfer werden einige Blutstropfen auf ein Stückchen Fließpapier entnommen. Das Fließpapier ist in der erforderlichen Größe ($16 \times 26 \text{ mm}$) käuflich, doch muß man sich ebenso wie bei den Reagenzien durch eine Leerbestimmung davon überzeugen, daß es frei von reduzierenden Substanzen ist. Andernfalls muß es einige Male in ganz schwach angesäuertem Wasser und schließlich 1–2mal in reinem Wasser ausgekocht und dann wieder getrocknet werden, bis es keine reduzierende Substanzen mehr enthält. Die Einstichstelle muß durch Abreiben mit Äther von Fett gereinigt sein, doch darf der Einstich erst erfolgen, wenn der Äther vollkommen verdunstet ist. Das Blut soll von selbst und nicht erst auf stärkeren Druck hervorquellen, der Einstich darf also nicht zu oberflächlich sein; der erste Tropfen wird am besten nicht benutzt, sondern erst der zweite. Das Filterpapier darf nicht die Haut berühren und auch nicht mit den Fingern berührt werden. Es wird aus der Schachtel entnommen und gehalten mit einer sauberen Hornpinzette, deren Branchen innen mit Messing belegt sind. Die entnommene Blutmenge soll etwa 100–120 *mg* betragen, diese Menge entspricht etwa 3–4 Tropfen. Die gewonnene Blutmenge muß sofort schnell gewogen werden, da sonst durch Wasserverdunstung ihr Gewicht verändert wird. Es kann aus diesem Grunde nicht mit der gewöhnlichen chemischen Wage gewogen werden, sondern die Gewichtsbestimmung des Filtrierpapierblättchens hat vor und nach der Beschickung mit Blut zu erfolgen mittels der Bangschen Torsionswaage, die eine auf 1 *mg* genaue Bestimmung innerhalb weniger Sekunden erlaubt. Aus der Differenz beider Bestimmungen ergibt sich das Gewicht der entnommenen Blutmenge.

Um die Anschaffung einer Torsionswaage zu vermeiden, ist empfohlen worden, 0,1 *cm*³ Blut mittels einer kleinen geachten Pipette zu entnehmen und deren Inhalt quantitativ auf ein Filtrierpapierblättchen auszustreichen. Wir sind der Ansicht, daß durch diese Maßnahmen in die an sich diffizile Methodik des „Bang“ noch weitere Fehlerquellen hineingetragen werden, und empfehlen vielmehr, wenn man die Benutzung der Torsionswaage umgehen will, an Stelle der Bangschen die Hagedornsche Mikromethode (II., A., 3.) zu verwenden.

b) Enteiweißung und Reduktionsbestimmung. Die mit Blut getränkten Filtrierpapierscheibchen werden nach ihrer Wägung etwa 5 Minuten lang trocknen gelassen und dann in je ein kurzes, weites Reagenzglas gebracht, in denen sie, ohne anzustoßen, Platz finden. Zu dem getrockneten Papier werden 6,5 *cm*³ der Salzlösung gegeben, die man vorsichtig vom Rand aus zufließen läßt, um nicht Blutteilchen von dem

Papier damit abzuspülen. In der Salzlösung bleiben die Papierscheiben mindestens $\frac{1}{2}$ Stunde; in dieser Zeit wird der Zucker aus dem Blut extrahiert, während das Eiweiß koaguliert und bei sorgfältiger Technik an dem Papier haften bleibt, so daß die Lösung nicht durch Eiweißflocken getrübt wird. Nach mindestens $\frac{1}{2}$ Stunde (und höchstens 3–4 Stunden) wird die Salzlösung in einen Erlenmeyer-Kolben von 125 cm^3 gegossen und das Reagensglas mit 6.5 cm^3 Salzlösung nochmals nachgespült, die ebenfalls in den Kolben gebracht werden. Sollte sich doch etwas Eiweiß von dem Papier abgelöst haben, so muß das Übergießen

Abb. 54.



in den Erlenmeyer-Kolben durch ein möglichst kleines Filter erfolgen, doch können durch das Filtrieren leicht Substanzverluste entstehen, so daß es besser durch vorsichtiges Arbeiten zu vermeiden ist. In den Erlenmeyer-Kolben kommen weiterhin genau mit einer Vollpipette abgemessene 2 cm^3 Jodsäurelösung, sowie 2 cm^3 Alkalilösung. Nun wird der Kolbeninhalt 4 Minuten zum Sieden erhitzt, u. zw. unter Abschluß der Luft, deren Sauerstoff sonst das durch den Traubenzucker reduzierte Kupferoxydul teilweise wieder reoxydieren könnte. Zu diesem Zwecke wird ein Kolben von etwa 1–2 l Inhalt zur Hälfte mit destilliertem Wasser und einigen Siedesteinchen gefüllt und zum Sieden erhitzt. Der ausströmende Wasserdampf wird in die Lösung übergeleitet durch ein 2mal rechtwinklig gebogenes Glasrohr, das durch einen durchbohrten Korken in den Kochkolben hineinragt, während es auf der anderen Seite eine bauchige Verdickung in der Art einer Pipette aufweist, die gerade auf die Öffnung des Erlenmeyer-Kolbens zu stehen kommt und diesen dadurch abschließt (s. Abb. 54). Der unterste Teil des Überleitungsrohres, der so lang sein muß, daß er eben den Boden des Erlenmeyer-Kolbens berührt, weist eine kolbige Verdickung mit mehreren kleinen Löchern auf, durch die der Wasserdampf entweicht. Das Wasser im Kochkolben wird nun durch eine darunter gestellte nicht zu starke Flamme zum Sieden gebracht, worauf der in die Lösung strömende Wasserdampf diese im Verlauf etwa einer $\frac{1}{2}$ Minute ebenfalls ins Sieden versetzt, außerdem aber den oberen Kolbenraum mit Wasserdampf füllt, während die vorher dort befindliche Luft durch den kleinen Zwischenraum zwischen Kolbenhals und Bauchung des Überleitungsrohres ent-

weicht, so daß die Oberfläche der Lösung dauernd mit Wasserdampf, aber nicht mit Luft bedeckt ist. Nachdem das Sieden der Lösung etwas weniger als 4 Minuten gedauert hat, werden mit einer Pipette 2 cm^3 20% ige Schwefelsäure abgemessen, und nachdem volle 4 Minuten seit Beginn des Siedens verflossen sind, der auf einem beweglichen Stativ stehende Erlenmeyer-Kolben etwas gesenkt und die Schwefelsäure schnell hineingegeben. In der sauren Lösung reduziert das Kupferoxydul die Jodsäure, indem es sich selbst wieder oxydiert, und von diesem Moment an ist die Reoxydationsgefahr durch den Luftsauerstoff beseitigt. Man läßt nun erkalten, gibt etwa 25 cm^3 Wasser, 1 cm^3 5% ige Jodkalilösung und 2 Tropfen Stärkelösung hinzu, wodurch sich die Lösung blau färbt, und titriert aus einer Mikrobürette nach Bang mit $n/100$ Thiosulfatlösung, bis die Lösung farblos ist und beim Stehen 5 Minuten lang bleibt. Tritt vor 5 Minuten erneut eine Blaufärbung auf, so muß noch $\frac{1}{2}$ –1 Tropfen Thiosulfat zugegeben werden. Mit der Ausführung der Titration kann man beliebig lange warten, z. B. bei Serienuntersuchungen, bis alle Einzelbestimmungen gekocht sind, so daß die Titration aller Bestimmungen zum Schluß hintereinander erfolgen kann.

Vor Ausführung einer Bestimmung oder einer Serie von Bestimmungen muß jedesmal eine oder mehrere Leerbestimmungen ohne Blut, aber sonst wie oben beschrieben, ausgeführt werden, um das jodbindende Vermögen der angewandten Reagenzien festzustellen. Es ist oben darauf hingewiesen worden, daß die Reagenzien leicht Verunreinigungen enthalten, die die Bestimmungen fehlerhaft beeinflussen können, aber auch reinste Reagenzien weisen ein gewisses jodbindendes Vermögen auf, das jedoch im allgemeinen bei den angewandten Mengen nur 0.03 cm^3 Thiosulfatlösung entspricht, keinesfalls aber mehr als höchstens 0.15 cm^3 betragen soll.

Bei sehr hohen Blutzuckerwerten über 0.5%, wie sie ja selten, aber zuweilen doch, z. B. beim Coma, vorkommen, darf nur 50 mg Blut, oder besser nur die Hälfte der zuckerhaltigen Salzlösung zur Ausführung benutzt werden.

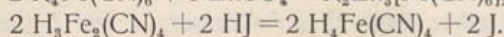
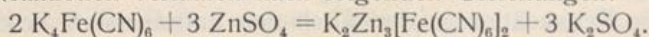
Berechnung: Die bei der Bestimmung verbrauchte Thiosulfatlösung wird von der bei dem Leerversuch verbrauchten abgezogen; die Differenz dividiert durch 2.8 (2.8 cm^3 $n/100$ Thiosulfatlösung entspricht 1 mg Zucker) ergibt den Traubenzucker in Milligrammen in der verwandten Blutmenge.

Die Bangsche Methode erfordert peinlichst korrektes Arbeiten und große Übung, liefert aber, wenn diese Vorbedingungen erfüllt sind, sehr genaue und zuverlässige Werte.

3. Mikromethode nach Hagedorn-Jensen¹⁾.

Prinzip: Das mit einer Mikropipette entnommene Blut wird durch Kochen in Zinkhydroxydaufschwemmung enteiweißt, das eiweißfreie Filtrat in der Wärme mit einer Ferricyanidlösung behandelt, das dabei durch Reduktion gebildete Ferrocyanid ausgefällt und das überschüssige Ferricyanid jodometrisch bestimmt.

Die Reaktionen verlaufen nach folgenden Gleichungen:



Erforderliche Reagenzien:

1. n/10 Natronlauge.
2. 0.45 % ige Zinksulfatlösung.

Beide Lösungen sind alle 8 Tage frisch aus n/1 Lauge, bzw. 45 % ige Zinksulfatlösung herzustellen.

3. Ferricyanidlösung. 1.65 g Kaliumferricyanid puriss. pro analysi, 16.6 g Natriumcarbonat, wasserfrei, Aq. dest. ad 1 l. Vor Licht geschützt aufbewahren!

4. Kaliumjodidzinksulfatnatriumchloridlösung. (Kaliumjodid 5.0, Zinksulfat puriss. eisenfrei 10.0, Natriumchlorid 50.0, Aq. dest. ad 200 cm³). Von der Lösung kann eine größere Menge ohne den Kaliumjodidzusatz vorrätig gehalten werden, während das nicht absolut haltbare Kaliumjodid nach und nach in kleineren Mengen der Lösung zugesetzt werden muß. Ist freies Jod in der Lösung vorhanden, kann es auch durch Filtrieren durch ganz dickes Filterpapier fast vollständig entfernt werden. Kleinere Fehlermengen werden durch Blindversuch ermittelt.

5. Essigsäurelösung. Eisessig (eisenfrei, Kahlbaum) 3.0, Aq. ad 100 cm³.

6. Stärkelösung. 1 g Stärke in 100 cm³ wässriger gesättigter Kochsalzlösung.

7. Thiosulfatlösung. 0.7 g Natriumthiosulfat, Aq. dest. ad 500 cm³. Der Titer dieser Lösung muß vor der jedesmaligen Bestimmung durch Titration mit folgender Kaliumjodatlösung bestimmt werden: 0.3566 g (exactissime) wasserfreies Kaliumjodat, Aq. ad 2000 cm³.

Ausführung: a) Enteiweißung. In ein Glas von etwa 15 mm Weite und 150 mm Länge werden 1 cm³ n/10 Natronlauge und 5 cm³ 0.45 % ige Zinksulfatlösung gemischt. Mit einer genau graduierten Capillarpipette werden (wie bei der Bangschen Methodik, nur daß hier, um das Aufsaugen von Luft zu vermeiden, größere Blutstropfen, also unter Umständen tiefere Einstiche erforderlich sind) 0.1 cm³ Blut aufgesogen, dieses

¹⁾ Hagedorn-Jensen, Biochem. Zeitschr., Bd. 135.

in die gelatinöse Zinkhydroxydaufschwemmung ausgeblasen und die Pipette noch 2mal mit der gleichen Lösung ausgespült und jedesmal wieder in das Glas entleert. Bis zur weiteren Verarbeitung kann man jetzt bis zu einigen Stunden stehen lassen. Das Glas wird nun vollständig im siedenden Wasserbad 3 Minuten erhitzt, wobei das Eiweiß in groben grauen Ballen ausfällt. Dann wird durch einen kleinen Trichter von 3 bis 4 cm Durchmesser in ein gleiches Glas filtriert, Trichter und Filter mit Hilfe der Pipette mit je 3 cm³ Wasser 2mal nachgewaschen.

Tabelle für Zuckerbestimmung nach Hagedorn-Jensen

cm³ n/200 Thiosulfat = mg Glykose.

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0.0	0.385	0.382	0.379	0.376	0.373	0.370	0.367	0.364	0.361	0.358
0.1	0.355	0.352	0.350	0.348	0.345	0.343	0.341	0.338	0.336	0.333
0.2	0.331	0.329	0.327	0.325	0.323	0.321	0.318	0.316	0.314	0.312
0.3	0.310	0.308	0.306	0.304	0.302	0.300	0.298	0.296	0.294	0.292
0.4	0.290	0.288	0.286	0.284	0.282	0.280	0.278	0.276	0.274	0.272
0.5	0.270	0.268	0.266	0.264	0.262	0.260	0.259	0.257	0.255	0.253
0.6	0.251	0.249	0.247	0.245	0.243	0.241	0.240	0.238	0.236	0.234
0.7	0.232	0.230	0.228	0.226	0.224	0.222	0.221	0.219	0.217	0.215
0.8	0.213	0.211	0.209	0.208	0.206	0.204	0.202	0.200	0.199	0.197
0.9	0.195	0.193	0.191	0.190	0.188	0.186	0.184	0.182	0.181	0.179
1.0	0.177	0.175	0.173	0.172	0.170	0.168	0.166	0.164	0.163	0.161
1.1	0.159	0.157	0.155	0.154	0.152	0.150	0.148	0.146	0.145	0.143
1.2	0.141	0.139	0.138	0.136	0.134	0.132	0.131	0.129	0.127	0.125
1.3	0.124	0.122	0.120	0.119	0.117	0.115	0.113	0.111	0.110	0.108
1.4	0.106	0.104	0.102	0.101	0.099	0.097	0.095	0.093	0.092	0.090
1.5	0.088	0.086	0.084	0.083	0.081	0.079	0.077	0.075	0.074	0.072
1.6	0.070	0.068	0.066	0.065	0.063	0.061	0.059	0.057	0.056	0.054
1.7	0.052	0.050	0.048	0.047	0.045	0.043	0.041	0.039	0.038	0.036
1.8	0.034	0.032	0.031	0.029	0.027	0.025	0.024	0.022	0.020	0.019
1.9	0.017	0.015	0.014	0.012	0.010	0.008	0.007	0.005	0.003	0.002

b) Reduktionsbestimmung. Es werden 2 cm³ der alkalischen Ferri-cyanidlösung zugesetzt und das Glas 15 Minuten im siedenden Wasserbad erhitzt. Nach erfolgter Abkühlung muß innerhalb 6 Stunden titriert werden. Zu diesem Zweck werden genau 3 cm³ Kaliumjodidlösung zugefügt, gemischt, dann mit 2 cm³ der Essigsäure angesäuert und das ausgeschiedene Jod unter Zusatz von 2 Tropfen Stärkelösung mit der Thiosulfatlösung aus einer Mikrobürette bis zur Farblosigkeit titriert. Der der verbrauchten Menge Thiosulfatlösung entsprechende Zuckerwert ergibt sich aus obenstehender Tabelle, von ihm ist derjenige Zuckerwert abzuziehen, den der jedesmal vorher auszuführende Leer-versuch ergeben hat.

Die Hagedornsche Methode hat vor der Bangschen den Vorzug, daß ihre Technik viel einfacher ist, daß sie keine Torsionswaage benötigt, und daß sie durch Verwendung der Eisenlösung an Stelle des Kupfersulfats die Gefahr der Reoxydation durch den Luftsauerstoff beseitigt. Ihr Nachteil liegt darin, daß größere Blutstropfen benötigt werden, so daß der Kranke bei Reihenuntersuchungen durch die häufigen tieferen Einstiche unter Umständen mehr belastigt wird als bei der Bangschen Methode.

C. Bestimmungen der Blutacidose.

1. Bestimmung der Gesamtacetonkörper, der β -Oxybuttersäure, der Acetessigsäure + Aceton nach van Slyke, im Serum oder Vollblut.

Prinzip s. I., B., d).

Erforderliche Reagenzien: s. ebenda.

Ausführung: 8 cm^3 Serum oder Blut werden in einen 200- cm^3 -Meßkolben pipettiert und mit 50 cm^3 Wasser und 15 cm^3 Quecksilbersulfatlösung versetzt. Nach einigen Minuten, während welcher umgeschüttelt wurde, wird bis zur Marke aufgefüllt. Nach 15 Minuten wird durch ein trockenes Faltenfilter filtriert und so oft auf dieses zurückgegossen, bis das Filtrat klar durchläuft. Mit 125 cm^3 des Filtrats wird die Bestimmung der Gesamtacetonkörper in genau derselben Weise ausgeführt, wie für 25 cm^3 Urinfiltrat + 100 cm^3 Wasser bei I., B., d) beschrieben ist. Um Aceton + Acetessigsäure und β -Oxybuttersäure getrennt zu bestimmen, werden aus den 125- cm^3 -Filtrat zuerst Aceton + Acetessigsäure entsprechend dem beim Urin angewandten Verfahren, ohne Zusatz von Chromat gefällt und der Niederschlag auf dem Gooch-Tiegel zwecks Wägung gesammelt. Die Titration empfiehlt sich bei den geringen Mengen nicht. 160 cm^3 des noch nicht mit Waschwasser verdünnten Filtrats werden nach Zusatz von 5 cm^3 Bichromatlösung anderthalb Stunden unter dem Rückflußkühler gekocht, wobei der β -Oxybuttersäure entsprechende Niederschlag ausfällt. Die hieraus gefundene Menge β -Oxybuttersäure ist mit $\frac{170}{160}$ zu multiplizieren. Zur Berechnung dienen folgende Faktoren:

Ausgeführte Bestimmung	1 g Niederschlag entspricht
Gesamtacetonkörper	12.8% Aceton
β -Oxybuttersäure	13.2% Aceton = 23.7% β -Oxybuttersäure
Aceton + Acetessigsäure	10.0% Aceton