

XXXVII.

Ueber die Bestimmung des Eiweissgehaltes im Urine, Blut-serum, Transsudaten mittelst des Venzke-Soleil'schen Polarisationsapparates.

Von Dr. F. Hoppe.

Die Fortschritte, welche die analytische Chemie in den letzten Jahren insbesondere durch Ausbildung der volummetrischen Bestimmungen und der Benutzung des Maasses der bei bestimmten chemischen Prozessen verbrauchten Substanzen zur Messung anderer bei diesen Prozessen in bekannter Weise betheiligter Stoffe gemacht hat, sind für die Entwicklung der analytischen physiologischen Chemie von fast ebenso grosser Bedeutung geworden, als für die technische Chemie. Der schnellen Ausführbarkeit und Präcision, welche diese Methoden der Analyse auszeichnen, haben die Physiologie und Pathologie schon manchen Gewinn zu verdanken. Leider sind jedoch gerade von den Stoffen, deren quantitative Bestimmung für Physiologie und Pathologie vom höchsten Interesse ist, nicht alle einer so schnell ausführbaren und genauen Bestimmung fähig, wenigstens lässt die Mannigfaltigkeit der Zersetzungswisen der Eiweissstoffe und der Umstand, dass diese Stoffe keine Verbindungen nach bestimmten chemischen Aequivalenten einzugehen scheinen, jede Hoffnung schwinden, dass man durch irgend welchen derartigen Prozess die Menge des Albumins in einer Lösung werde bestimmen lernen. Selbst die directe Bestimmung dieser Stoffe durch Wägung findet in der Schwierigkeit einer genauen Trennung von anderen Stoffen und in der hygroskopischen Eigenschaft der trocknen Eiweisskörper nicht unerhebliche Hindernisse. Um so erfreulicher ist es, dass eine der vielen merkwürdigen physikalischen Eigenschaften dieser Stoffe ein Mittel an die Hand giebt, welches nicht allein eine für viele Fälle sehr genaue Bestimmung

der Eiweissstoffe gestattet, sondern diese Bestimmung selbst schneller ausführen lässt, als irgend eine volummetrische Bestimmung und welches in seiner Anwendung sich noch dadurch empfiehlt, dass der zur Untersuchung verwendete Theil durch dieselbe nicht verändert wird, sondern nachher noch zu anderen Untersuchungen verwendet werden kann.

Die quantitative Bestimmung des Rohrzuckers mittelst der durch ihn bewirkten Drehung der Ebene des polarisierten Lichtes ist bereits seit mehreren Jahren in der technischen Chemie hinlänglich eingebürgert; kaum grössere Schwierigkeiten, als diese Untersuchung, bietet die Bestimmung der Circularpolarisation eiweisshaltiger Flüssigkeiten.

Nachdem Biot gefunden hatte, dass das Albumin die Polarisationsebene nach links dreht, versuchten Bouchardat und A. Becquerel die Menge des in thierischen Flüssigkeiten enthaltenen Albumins durch die Circularpolarisation zu bestimmen *). Beide untersuchten mit Apparaten, welche eine genaue Messung nicht zuliessen. Bouchardat bestimmte das specifische Drehungsvermögen des Albumin, da ich jedoch nicht habe finden können, für welches Licht Bouchardat diese Drehung gefunden hat, so war es mir nicht möglich, eine Vergleichung anzustellen. Die directe Bestimmung der specifischen Drehung des Albumins hat aber grössere Schwierigkeiten, als die quantitative Bestimmung dieses Körpers in Lösungen, da die eiweishaltigen Flüssigkeiten fast immer etwas gefärbt sind und man vollkommene Gleichheit des Drehungsvermögens von Hühnereiweiß und Bluterumeiweiß nicht von vornherein statuiren darf. Bouchardat gab wegen der Unvollkommenheit der Apparate alle weiteren Versuche auf und A. Becquerel fand wenigstens keine Nachfolger. Obwohl zur Zeit der Becquerel'schen Untersuchungen eiweishaltiger Flüssigkeiten mittelst des polarisierten Lichtes das Soleil'sche Saccharimeter bereits existirte, adoptirte Becquerel doch das vortreffliche Princip dieses Apparates nicht, sondern stellte ein Instrument, ein Albu-minimeter zusammen, welches vor den früher gebrauchten nichts Wesentliches voraus hatte. Er verwarf den Soleil'schen Apparat

*) Compt. rend. T. 28. p. 625. Novbr. 1849.

hinsichtlich der Albuminbestimmung wegen eines Umstandes, der gerade für das Soleil'sche Princip und gegen seinen Apparat spricht. Er sagt nämlich, die Eiweisslösungen seien meist gefärbt und deswegen sei der Soleil'sche Apparat hier nicht anwendbar. Da jedoch die hauptsächlichste Eigenthümlichkeit des Soleil'schen Apparates darin liegt, dass hier zwei ungleich gefärbte Theile eines Gesichtsfeldes gleichgemacht werden müssen, um die Bestimmung auszuführen, ohne dass es auf die Qualität der Farben irgend ankäme, mögen sie roth, blau, grün etc. sein, während beim Becquerelschen, sowie beim Biot'schen Apparate der plötzliche Uebergang aus einer bestimmten Farbe, Blau, in eine andere bestimmte, Roth, aufgesucht werden soll, ist leicht zu ersehen, dass eine Färbung der Lösung wohl auf die einzelnen Farben einen Einfluss üben, durchaus aber keine Verschiedenheit der beiden Hälften des Gesichtsfeldes erzeugen kann. Denn wenn auch die Farben beider Hälften andere werden, wenn die Farben der Lösungen hinzutreten, so kann die Gleichheit beider Hälften doch immer nur bei demselben Punkte eintreten. Je intensiver die Farbe der Lösung ist, desto ungenauer wird die Bestimmung, möge der Apparat construirt sein, wie man will, jedenfalls ist sie bei jeder Farbe oder Trübung nach dem Soleil'schen Principe genauer ausführbar, als nach irgend einem anderen Principe. Becquerel hat nach seiner Angabe stets Röhren von 200 Mm. Länge genommen, welche er mit der zu untersuchenden Flüssigkeit füllte, diese Länge ist für gefärbte und wenn auch noch so gering opalescirende Flüssigkeiten, wie Eiweisslösungen, meistens zu gross, durchschnittlich wird eine Länge der Röhre von 100 Mm. selbst von 50 Mm. genauere Resultate geben; oft ist sogar bei 100 Mm. Länge der Röhre das Licht schon zu schwach und in einigen Fällen habe ich mich mit Vortheil bei Untersuchung von Blutserum einer 25 Mm. langen Röhre bedient. Die hierdurch erhaltene Lichtstärke compensirt nicht allein die Vergrösserung, welche die Beobachtungsfehler durch die Multiplikation erleiden können, sondern giebt noch grössere Genauigkeit als eine das Licht sehr absorbirende und zerstreuende dicke Schicht. Auch der Soleil'sche Apparat hat noch manche Mängel, welche Venzke bei seinem Apparate, welcher eine Modification des

Soleil'schen ist, soweit dies möglich ist, beseitigt hat. Zu den folgenden Untersuchungen diente mir ein Apparat, welcher nach Ventzke's Angabe und unter seiner Leitung von Pawlowsky angefertigt ist. Derselbe hatte die hauptsächliche Bestimmung eine schnelle Messung des Zuckergehaltes im diabetischen Urine zu gewähren. Die nach dem Soleil'schen Prinzip auf den Compensationskeilen befindliche Scala giebt daher direct in Grammen und durch den Nonius in Zehntel derselben den Gehalt des Urins an Zucker in 100 Cem. an. Zur Beleuchtung diente eine durch einen engen Cylinder sehr concentrirte, kreisförmige Gasflamme, deren Licht durch einen innen weissen, aussen geschwärzten Thonzyylinder, der eine seitliche Oeffnung im Lumen des Polarisationsapparates besass, nur zur Beleuchtung des Gesichtsfeldes im Apparate verwendet war. Die Bestimmung des Zuckers im Harne ist mit diesem Instrumente binnen einer Minute ausführbar, der Fehler in der richtigen Einstellung beläuft sich bei Ungeübten nicht über 0,2 Grm. und bei Geübten nicht über 0,1 Grm. für 100 Cem. Urin. Controlbestimmungen mittelst der Boedeker'schen titrirten Kupferlösung, welche von mehreren Herren ausser mir im Laboratorium des Pathologischen Institutes hier ausgeführt wurden, gaben Resultate, welche gewöhnlich um wenige Zehntel höher ausfielen, zuweilen aber auch genau übereinstimmten.

Um mittelst dieses Apparates das Albumin zu bestimmen, waren zunächst folgende Fragen zu beantworten: 1) Wie verhält sich das Drehungsvermögen der Eiweisslösungen von bekanntem, aber verschiedenem Eiweissgehalte; ist die Drehung proportional der Menge des enthaltenen Eiweißes, wie dies Biot von anderen die Polarisationsebene drehenden Substanzen fand? 2) Wie verhält sich die Drehung, durch eine Eiweisslösung bewirkt, zu der einer Zuckerlösung von ebenso viel Gehalt an Zucker, als jene Eiweiss enthält? 3) Erleidet die Drehung durch Eiweisslösungen mit der Zeit eine Änderung? 4) Hat der grössere oder geringere Alkaligehalt einer Flüssigkeit Einfluss auf die Stärke der Drehung durch das in der Flüssigkeit enthaltene Albumin? 5) Finden sich in diesen Albuminlösungen noch andere die Polarisationsebene drehende Substanzen und wie kann man ihre Wirkung kennen

lernen? 6) Drehen die verschiedenen Modificationen des Eiweisses, z. B. Fibrin etc., eben so stark als das Albumin?

Was zunächst die erste Frage anlangt, so ist zu bevorworten, dass wohl selten die Gelegenheit gegeben sein mag, sehr concentrirte Eiweisslösungen zu untersuchen. Das Blutserum enthält bekanntlich nie mehr als 9 pCt. Albumin und meist nur 7 bis 8 pCt., die Transsudate höchstens so viel als das Blutserum. Deswegen waren dies auch die concentrirtesten Lösungen, auf welche sich meine Untersuchungen bezogen. Peritonealtranssudate, Blutserum vom Menschen und Hydroceleflüssigkeiten wurden zunächst hinsichtlich der bewirkten Drehung untersucht; dann mit Wasser zu gleichen Volumentheilen versetzt und wieder in gleich dicker Schicht untersucht, nochmals verdünnt bis auf $\frac{1}{4}$ der ursprünglichen Concentration und wieder die Drehung bestimmt. Es entstehen leicht Trübungen, bekanntlich bei der Verdünnung mit Wasser, welche durch einen Tropfen verdünnter Natronlauge wieder zum Verschwinden gebracht werden können. (Bei den Hydroceleflüssigkeiten trat keine Trübung beim Verdünnen ein.) In allen Fällen wurde die Drehung proportional der Concentration, d. h. der vom Lichte durchwanderten Albuminschicht gefunden.

Zur Bestimmung der Drehungsgrösse des Albumin relativ zu der des Traubenzuckers wurden dieselben Flüssigkeiten benutzt und ausserdem eiweißhaltige Urine, welche durch Filtration vollkommen klar erhalten wurden. Es wurde zunächst die durch sie bewirkte Drehung gemessen, dann das specifische Gewicht bestimmt (dies ist leider bei mehreren versäumt worden, siehe die Tabelle), dann eine gewogene oder volumetrisch gemessene Menge der Flüssigkeit nach der Berzelius'schen Methode mit geringer Modification, hier und da auch nach Scheerer's Methode auf ihren Albumingehalt geprüft. Die erstere hauptsächlich in Anwendung gezogene Methode bestand darin, dass die Flüssigkeit mit Essigsäure etwas angesäuert, im Wasserbade bei 100°, soweit es ging, abgedampft und der Rückstand getrocknet, sodann im Vacuum über Schwefelsäure einige Zeit behandelt, der Rückstand mit Alkohol überschüttet, unter demselben mit dem Pistill pulverisiert, im Wasserbade zum Kochen erhitzt und auf ein gewogenes Filter gebracht, noch einige

Male mit kochendem Alkohol, dann mit kochendem Wasser behandelt und ausgewaschen wurde. Das Filter mit dem Albumin wurde mit der Porzellanschale, in welcher es coagulirt war und in welcher leicht Reste von Albumin trotz aller Sorgfalt hängen bleiben, getrocknet im Luftbade, dann über Schwefelsäure im Vacuum gewogen und dann verascht, die Asche vom Albumin abgezogen. Die Waschflüssigkeiten und Extracte waren stets wasserhell und frei von Albumin. In der folgenden Tabelle finden sich in der Columne a die Menge der untersuchten Flüssigkeit, unter b die Menge des darin gefundenen trocknen Albumins, unter c die daraus berechneten Procante, d. h. Grammes Albumin in 100 Ccm., unter d die beobachtete Drehung in Theilen der Scala des Apparates (mit dem Vorzeichen — als Linksdrehung), die letzte Columne giebt das spec. Gewicht der Flüssigkeit.

	a	b	c	d	spec. Gew.
1) Eiweisshaltiger Urin	Grm. 20,1285	Grm. 0,2019	1,003	-1,0	1,009
2) - - - - -	24,2508	0,0903	0,390	-0,4	1,007
3) Blutserum vom Ochsen, verdünnt, filtrirt	28,0613	0,5792	2,064	-2,0	?
4) Blutserum vom Menschen, verdünnt, filtrirt	28,7563	0,5203	1,809	-1,8	?
5) - - - - -	19,036	0,3472	1,824	-1,75	?
6) Ochsenblutserum, verdünnt, filtrirt	30 Ccm.	0,862	2,87	-2,5	?
7) Menschl. Blutserum, verdünnt, mit NaO geklärt	25 Ccm.	1,0548	4,203	-3,9	1,01508
8) Hydroceleflüssigkeit, verdünnt	34,6028	1,0425	3,013	-3,2	?
9) Hydroceleflüssigkeit, verdünnt	16,2885	0,6052	3,716	-4,1	?

Vergleicht man in dieser Tabelle die entsprechenden Werthe der Columnen c und d, so findet man fast dieselben Zahlen, einige Male ist der Werth in c geringer: No. 8 u. 9, andere Male in d geringer: z. B. No. 5, 6, 7; im Ganzen entspricht jedoch die Anzahl der Scalentheile, um welche die Keile des Instrumentes gedreht werden mussten zur vollständigen Compensation der durch das Eiweiss bedingten Linksdrehung, dem Grammengehalte von 100 Ccm. Flüssigkeit an Albumin. Die quantitative Bestimmung des Albumins

hat, wenn sie auch mit aller Sorgfalt ausgeführt wird, hinlängliche Fehlerquellen, um die durch die chemische Bestimmung gefundenen Abweichungen zu erklären, und man könnte nach einer Vergleichung der Werthe von c und d daher wohl den Schluss machen:

dass das in einer Flüssigkeit enthaltene Eiweiss die Ebene des polarisierten Lichtes fast ebensoweit links dreht, als ein gleicher Procentgehalt an Traubenzucker die Polarisationsebene rechts ablenkt, dass also eine Scala auf dem Venzke'schen Apparat, welche direct das Gewicht Traubenzucker für 100 Ccm. Flüssigkeit ablesen lässt, nach Compensation der Drehung auch die directe Ablesung des Gewichtes Albumin in 100 Ccm. Eiweisslösung gestattet. Derselbe Apparat würde also hinreichen ohne weitere Berechnung, ohne Verbrauch von Material binnen der kürzesten Zeit den Gehalt einer Lösung an Albumin zu ermitteln bis auf 0,1 pCt. genau und ebenso mit derselben Genauigkeit den Gehalt anderer Flüssigkeiten an Traubenzucker festzustellen.

Lässt man albuminhaltige Flüssigkeiten, deren Drehung bestimmt ist, mehrere Tage stehen, so trüben sie sich und ihre Drehung hat abgenommen; bei manchen auf diese Weise getrübten albuminhaltigen Urinen kann die frühere Drehung, sowie die frühere Klarheit durch Versetzen mit einem Tropfen Essigsäure wieder hervorgerufen werden. Mit Blutserum würde diese Behandlung natürlich nicht vorgenommen werden können. Ehe jedoch eine Trübung in der Flüssigkeit eintrat, habe ich nie eine Veränderung in der Drehung einer albuminhaltigen Lösung binnen 2 bis 3 Tagen eintreten sehen.

Die beiden Hydroceleflüssigkeiten, deren Eiweissgehalt in der obigen Tabelle nebst der beobachteten Drehung angegeben ist, eigneten sich zu dieser Untersuchung im Polarisationsapparat vorzüglich wegen der geringen gelbgrünen Färbung und grossen Klarheit. Diese Flüssigkeiten trübten sich bei ihrer Verdünnung mit Wasser nicht im geringsten, sie reagirten stark alkalisch; bei beiden ist die beobachtete Drehung grösser ausgefallen, als dem gefundenen Eiweissgehalte nach dem mittleren Resultate der Bestimmungen entspricht. Die Ursache dieser Differenz zeigte sich

bei Versuchen mit sehr natronhaltigen Eiweisslösungen. Es zeigte sich nämlich hier stets eine Erhöhung der Drehung, welche so lange constant blieb, als keine Trübung der Flüssigkeit eintrat. Diese Vermehrung der Drehung erwies sich jedoch nur dann als erheblich, wenn die Menge des in der Lösung befindlichen Natron die Grenzen des natürlichen Alkal Gehaltes thierischer Flüssigkeiten bei Weitem überstieg. Kocht man eine sehr stark mit Natronlauge versetzte albuminhaltige Flüssigkeit, so nimmt ihr Drehungsvermögen sehr schnell ab, so dass schon einmaliges Aufkochen hinreicht, um eine sehr bedeutende $\frac{1}{2}$ bis $\frac{1}{4}$ betragende Verringerung der Drehung zu bewirken. Es lässt sich diese Verringerung nicht aus der Zersetzung des Albumin begreifen, da ein einmaliges Aufkochen nicht hinreicht, um die Hälfte des Albumins zu zerstören, und da ausserdem fortgesetztes Kochen jetzt nur allmäßige und weniger bedeutende Verringerung der Drehung bewirkt. Es ist daher wahrscheinlich, dass beim Kochen des Albumins mit Alkalilauge eine eigenthümliche Molecularveränderung in demselben hervorgerufen wird, welche sich sonst nicht wesentlich bemerkbar macht [Bildung von Mulder's Protein].

Was nun endlich die Stoffe anlangt, welche ausser dem Albumin sich noch in Lösung in den thierischen Flüssigkeiten finden und welche gleichfalls einen Einfluss auf die durch diese Flüssigkeiten bewirkte Drehung der Polarisations ebene üben können, so war ihre Auffindung in diesem Falle doppelt schwierig, da zu der Schwierigkeit, Albumin aus seinen Lösungen vollkommen auszuscheiden, noch der Umstand hinzukam, dass dies in der Kälte geschehen musste, da ja das Coaguliren in der Hitze möglicher Weise eine Veränderung dieser Substanzen bedingen konnte. So sehr sich das basisch-essigsäure Bleioxyd empfiehlt, so war es doch sehr wahrscheinlich, dass dies ausser dem Eiweiss auch andere drehende Stoffe füllen könnte und ich zog daher die Anwendung eines anderen Reagens vor, welches in der Kälte kaum eine Ausfällung oder Veränderung eines anderen Stoffes bedingen konnte, nämlich des kohlensäuren Kalis.

Versetzt man eine eiweisshaltige Flüssigkeit mit trocknem,

pulverigem, kohlensaurem Kali in kleinen Portionen unter Umschütteln bis zur Sättigung, so wird das gesammte in der Flüssigkeit enthaltene Albumin ausgeschieden und durch Filtration erhält man eine wasserhelle Flüssigkeit, welche außer dem Albumin, den Farbstoffen und phosphorsauren Erden sämtliche Stoffe noch enthält, die sich in der Flüssigkeit vorher befanden. Ist die Flüssigkeit noch etwas trübe, so wird sie durch Wiederholung der Filtration klar oder durch Versetzen mit etwas Wasser. Die so erhaltene Lösung kann nur dann im Polarisationsapparate untersucht werden, wenn sie noch etwas mit Wasser verdünnt ist, da gelatinöse oder syrupöse Stoffe, sowie Glycerin, ölige Lösungen etc. eine verschiedene Färbung des Gesichtsfeldes veranlassen, deren Farben sich ändern, wenn die Beobachtungsrohre mit der Flüssigkeit um ihre Längsaxe gedreht wird. Verschiedene Temperatur und Dicke der Schichten solcher Lösungen bedingt gleichfalls verschiedene Färbung, Verziehung des Gesichtsfeldes bis zur Unkenntlichkeit. Will man nicht diesen Weg der Fällung mit trocknem kohlensaurem Kali und Verdünnung des Filtrates einschlagen, so kann man sich noch mit Vortheil der Combination des kohlensauren Kalis mit Aether bedienen. Schüttelt man eine eiweisshaltige Flüssigkeit mit ihrem Volumen an Aether und fügt dann trocknes kohlensaures Kali allmälig hinzu unter häufigem Umschütteln, so erhält man vollständige Ausfällung der Eiweissstoffe, noch ehe die Lösung mit kohlensaurem Kali gesättigt ist, das Filtrat ist dann sehr wohl zur Untersuchung im Polarisationsapparate geeignet*).

Mehr als 12 Eiweisslösungen habe ich auf diese Weise auf ihren Gehalt an Stoffen geprüft, welche Einfluss auf die Drehung der Polarisationsebene übten, ohne den Eiweissstoffen selbst zuzugehören; von den in obiger Tabelle verzeichneten Flüssigkeiten wurden mit Ausnahme von No. 2, 7 und 8 alle auf diese Weise

*). Durch trocknes kohlensaures Kali, bis zur Sättigung eingetragen oder durch Aether und kohlensaures Kali können sämtliche Eiweissstoffe aus ihren Lösungen vollkommen ausgeschieden werden. Die Milch wird durch Aether und kohlensaures Kali in ihre 3 Hauptbestandtheile zerlegt; sie zerfällt in drei Schichten, von denen die beim ruhigen Stehen sich klärende unterste den Milchzucker, die obere die Butter in Aether gelöst und die mittlere das Caseincoagulum enthält.

untersucht, ohne dass ich mehr als zweimal solche Stoffe gefunden hätte. Von diesen beiden war die eine Flüssigkeit das Blutserum von einer an Diabetes leidenden Frau, welches mit 2 Volumentheilen Wasser verdünnt und mit einem Tropfen Natronlauge aufgeheilt eine constante Drehung von —1,9 Scalentheilen zeigte. Hiernach würde das Serum nur 5,7 pCt. Eiweiss enthalten haben. Eine Portion des Blutserums mit kohlensaurem Kali und Aether geschüttelt, filtrirt, gab eine Flüssigkeit, welche +0,45 Drehung ergab. Nimmt man an, dass durch das kohlensaure Kali die Lösung etwa auf das doppelte Volumen kam, so würde also die Rechtsdrehung des Blutserum weniger Eiweiss = +0,9 gewesen sein und wenn man dann den Eiweissgehalt mit Rücksicht hierauf berechnet, so erhält man 6,6 pCt. Albumin. Leider missglückte bei der kleinen restirenden Serummenge die quantitative Bestimmung des im Serum enthaltenen Zuckers mittelst der Boedeker'schen Kupferlösung. Da man mit Hülfe dieser titirten Flüssigkeit binnen nicht langer Zeit den Gehalt eines Blutserums an Zucker ermitteln kann, so kann also auch diese Fehlerquelle vollkommen vermieden werden, wenn man die in 100 Ccm. des Serums gefundene Zuckermenge zur gefundenen Eiweissmenge addirt, da eben der enthaltene Zucker ungefähr ebensweit rechts, als das Eiweiss links dreht.

Für die Bestimmung des Gehaltes eines Urins oder Serums an Eiweiss mittelst des Polarisationsapparates möchte aber kaum eine Bestimmung des Zuckergehaltes nöthig sein, ausser eben bei vorhandenem Diabetes mellitus, da in den übrigen Fällen wohl selten 0,1 pCt. Zucker in diesen Flüssigkeiten enthalten zu sein scheint.

Die zweite Flüssigkeit, welche eine Drehung nach Ausfällung des Albumins mittelst Aether und kohlensauren Kalis zeigte, war der durch Punction entleerte Inhalt einer grossen Ovarialcyste, den Hr. Geheimr. Langenbeck mir zu senden die Güte hatte. Das Filtrat zeigte eine Drehung von +0,35 im Mittel. Die Drehung der ursprünglichen Flüssigkeit war = —1,8 gefunden worden. Der Eiweissgehalt erwies sich = 2,04 Grm. in 100 Ccm. (In 20 Ccm. Flüssigkeit fanden sich, nach Scheerer's Methode bestimmt, 0,408 Grm. Albumin; spec. Gew. der Flüssigkeit war 1,015.) Auf die oben

beschriebene Weise berechnet, würde die Drehung 2,5 pCt. Eiweiss ergeben haben. Wenn nun auch die Scheerer'sche Methode der Eiweissbestimmung keine absolut genauen Resultate, sondern stets etwas zu wenig ergiebt und sich auch fast immer Eiweiss im Filtrate gelöst finden lässt, wenn nicht viel Salze in der Lösung sind, so würde doch ein Verlust von 0,5 pCt. nicht stattgefunden haben und es möchte daher wohl eine Veränderung des drehenden Extractivstoffes durch die Behandlung mit $KOCO_2$ und Aether anzunehmen sein, in der Weise, dass seine Rechtsdrehung durch diese Behandlung vermehrt war. Dies wurde noch wahrscheinlicher durch die Beobachtung seines Verhaltens bei dem Versuche ihn durch Coagulation des Albumins in der Hitze etc. zu isoliren. Da mir etwa 15 Litres der Flüssigkeit zu Gebote standen, so versuchte ich durch Neutralisation der Flüssigkeit mit Essigsäure (die Flüssigkeit war stark alkalisch), Erhitzen zum Kochen, Filtration durch Leinwand, Verdunsten des Filtrates bei höchstens 80° (bei höherer Temperatur bräunte sich die Flüssigkeit und die später erhaltenen Extracte nahmen diese Farbe an) zum dicken Syrup, Extrahiren mit Alkohol, Verdunsten, Fällung mit basisch-essigsaurem Bleioxyd und nachheriger Behandlung mit kohlensaurem Natron und zuletzt mit Essigsäure und Concentriren der Lösung diesen Stoff zu isoliren, ohne dass es mir gelang, ihn unzersetzt zu erhalten. Die Extracte drehten die Polarisationsebene alle links statt rechts auch nach der Behandlung mit basisch-essigsaurem Bleioxyd. Beim vollständigen Verdunsten blieb ein Syrup, welcher nur Krystalle anorganischer Salze und von essigsaurem Natron ausschied, Kupferoxyd sehr reichlich auflöste zur dunkelblauen Flüssigkeit, ohne dass beim Kochen Reduction zu Oxydul eintrat. Da allerdings sehr unbedeutende Spuren von Leucin sich im Extractrückstande fanden, so untersuchte ich Lösungen von Leucin, welches durch mehrmaliges Umkrystallisiren aus heissem Alkohol möglichst gereinigt war. Ich bekam einige Male eine höchst unbedeutende Rechtsdrehung, andere Male eine ebenso unbedeutende Linksdrehung durch ziemlich concentrirte Lösungen, so dass die Einwirkung eines Leucingehaltes der Flüssigkeit wohl immer ohne Einfluss auf die Bestimmung des Eiweissgehaltes sein wird. Da sowohl Amyl-

alkohol, als Amylepe, als Baldriansäure die Polarisationsebene drehen, die ersten beiden links, die letztere stärker rechts, so wird wohl auch das Leucin eine höchst geringe Drehung bewirken, aber der Gehalt einer Flüssigkeit an Leucin müsste enorm werden, wenn dieser Stoff Einfluss auf die Bestimmung des Eiweisses oder Zucker gehaltes einer Flüssigkeit üben sollte.

Ein geringer Fehler könnte noch aus einem bedeutenden Ge halte des kohlensauren Kalis an Kieselsäure entstehen, da die Lö sung des Wasserglases deutlich nach rechts die Polarisationsebene dreht. Das bei obigen Untersuchungen benutzte kohlensaure Kali zeigte keine Einwirkung auf die Polarisation ausser der beschrie benen Wirkung, welche durch zu ölige concentrirte Lösungen her vorgerufen wird.

Es ergiebt sich nun aus den obigen Untersuchungen, dass die Schwierigkeiten, welche einer genauen quantitativen Bestimmung des Albumins in thierischen Flüssigkeiten mittelst des Polarisations apparates entgegenstehen, zwar ein wenig grösser sind als die Hindernisse, welche eine Bestimmung des Traubenzuckers im Harne findet, indem die albuminhaltigen Flüssigkeiten oft nicht vollkommen klar sind und auch durch Filtration nicht ganz geklärt werden und hier und da Körper in diesen Flüssigkeiten sich finden, welche an der Drehung der Polarisationsebene participiren, dass aber dennoch 1) die Untersuchung nicht zu dunkel gefärbter albuminhaltiger Flüs sigkeiten leicht damit auszuführen ist; 2) diese Untersuchung keine grössere Fehlerquellen besitzt als die Bestimmung auf chemischem Wege; 3) eine Aufhellung trüber Flüssigkeiten mittelst Natronlauge oder Essigsäure in sehr geringer Menge ohne Nachtheil für die Bestimmung geschehen kann, während Ueberschuss von Natron das Resultat zu hoch ausfallen lässt; 4) dass die Drehung des Albumins ziemlich ebenso stark nach links geht, als die des Traubenzuckers nach rechts, dass man also eine Scala zur directen Able sung der in 100 Ccm. Lösung enthaltenen Grammen Albumin und Traubenzuckers benutzen kann und somit dem Beobachter jede Rechnung erspart ist, und die Dauer der ganzen Untersuchung nur

wenige, oft kaum einige Minuten währt. Wenn somit durch Benutzung der Drehung der Polarisationsebene nicht allein die wichtigsten chemisch-klinischen Untersuchungen des Zuckers und Albumins ausgeführt werden können, sondern selbst mit grösster Genauigkeit in der kürzesten Frist sich vollenden, so wird es wohl gerechtfertigt erscheinen, wenn ich die Anwendung des Polarisationsapparates zu diesen Untersuchungen den Aerzten und insbesondere Klinikern empfehle. Wenn auch der Preis der Instrumente stets hoch bleiben wird, so ist doch durch dieselben in der Vollkommenheit, wie Hr. Pawlowsky sie anfertigt, eine so gute Bestimmung zu erzielen und fast so einfach wie eine qualitative Probe im Reagirgläschen geworden, dass kein Kliniker oder Praktiker überhaupt es bereuen wird, sich auf die Benutzung dieses Instrumentes eingelassen zu haben. Eine Beschreibung des Apparates hier zu geben, würde mir nicht zukommen, und Hr. Venzke hat dieselbe bereits veröffentlicht. Für die Untersuchungen auf Albumin ist es von besonderer Wichtigkeit, keine zu langen Röhren zur Fassung der Flüssigkeiten zu nehmen, Röhren von 100 Mm., 50 Mm. und vielleicht noch 25 Mm. sind sehr geeignet zur Untersuchung und solche von 200 Mm. selten anwendbar. Das, was man durch die grössere Drehung bei grosser Röhrenlänge an Genauigkeit gewinnt, wird meist übertrffen vom Nachtheil dieser Länge für die Lichtstärke; 100 Mm. lange Röhren sind die geeigneten für die meisten Untersuchungen und auf diese Länge beziehen sich auch die Theile der Scala der Instrumente; bei Anwendung einer Säule von 50 Mm. Länge muss man dann natürlich die Scalentheile verdoppeln um die Procente zu erhalten.

Von anderen eiweissartigen Stoffen habe ich bis jetzt noch frische Krystallinsensubstanz und Fibrin untersucht. Die Krystalllinse wurde in eine nur 1 Mm. lange Röhre zwischen den zwei schliessenden Glasplatten eingepresst, es gelang mir jedoch nicht auf diese Weise eine Bestimmung der Drehungsgrösse auszuführen, da die Lichtbrechung der inneren und äusseren Schichten so verschieden war, dass sich kein klares Bild beider Theile des Seh-

feldes herausstellte, es liess sich nur unterscheiden, dass überhaupt eine deutliche Drehung der Polarisationsebene stattfindet. [Die Flüssigkeiten des Auges zeigten nur Spuren von Linksdrehung. Hornhaut wurde leider nicht untersucht, sicherlich wird sie, wie alle Leimlösungen, die Polarisationsebene links drehen.] Fibrin, allmälig in einem Peritonealtranssudate beim Stehen geronnen (Fibrin langsamer Gerinnung), wurde mit Wasser möglichst ausgewaschen, dann in Natronlauge gelöst. Die Lösung gab auf 100 Mm. Röhrenlänge 0,2 bis 0,3 Scalenthäle Drehung nach links. 25 Cem. dieser Lösung mit Essigsäure übersättigt, zur Trockene im Wasserbade verdunstet, mit Alkohol und Wasser gewaschen und auf dem Filter bei 110° getrocknet, gaben 0,0708 Grm. oder 0,2832 pCt. Fibrin. Spuren von den Eiweissstoffen waren im Waschwasser, wie es schien, mit durch das Filter gegangen.

Casein zur Untersuchung im Polarisationsapparate aus der Milch herzustellen, ist mir noch nicht gelungen; dies möchte auch wohl nur mittelst eines Centrifugalapparates zu erzielen sein.

Weitere Controlbestimmungen der Drehungsgrösse der Polarisationsebene durch Albuminlösungen, besonders durch concentrirtere Lösungen, werde ich bald diesen Bestimmungen nachfolgen lassen können.
