

Ueber die Verwendbarkeit von Farbenreactionen zur Prüfung von Ferrocyankalium-Eiweissniederschlägen.

Von

Hugo Winternitz.

(Der Redaction zugegangen am 18. Februar 1892.)

In meiner Arbeit «Ueber Eiweiss im normalen Harn»¹⁾ habe ich davon Mittheilung gemacht, in welcher Weise die Biuretreaction²⁾ und Millon's Reagens zur Prüfung von Ferrocyankaliumniederschlägen auf Eiweiss herangezogen werden können.

Das Ferrocyankalium stellt ein ausserordentlich empfindliches Eiweissreagens dar (nach Hofmeister³⁾ ist Albumin dadurch noch in einer Lösung von 1 : 50 000 nachweisbar), ohne dass es als absolut sicher bezeichnet werden darf, da geringe Niederschläge auch bei Abwesenheit von Eiweiss entstehen können, sei es als Zersetzungsproducte des Blutlaugensalzes, sei es als chemische Verbindung desselben mit anderen Körpern.

Unter solchen Umständen kann es nicht selten nothwendig erscheinen, eine durch Ferrocyankalium hervorgerufene Fällung auf ihre Eiweissnatur zu prüfen, um so die Differentialdiagnose sicher zu stellen, und dies ist um so wichtiger, als

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XV.

²⁾ In einer mir erst jetzt bekannt gewordenen Arbeit (Zuelzer's Centralbl., Bd. I) hat Malfatti zu gleichem Zwecke — wenn auch in anderer Weise — die Biuretreaction in Anwendung gebracht. Es ist selbstverständlich, dass ihm demnach hierfür die Priorität gebührt.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 2, S. 288.

die im Uebrigen noch empfindlicheren Eiweissreagentien, wie Gerbsäure, Phosphorwolframsäure, Jodquecksilberjodkalium oder Jodwismuthjodkalium die Anwendung der Farbenreactionen überhaupt nicht zulassen.

Im Nachfolgenden theile ich nun in Kürze mit, inwieweit auch die übrigen Farbenreactionen der Proteinsubstanzen zur Prüfung von Ferrocyankaliumniederschlägen geeignet erscheinen. Die Verwendbarkeit dieser Farbenreactionen hängt im Wesentlichen ab von der Beeinträchtigung, welche die Farbenreaction des Eiweisskörpers durch die bei Einwirkung des Reagens sich bildenden farbigen Zersetzungsproducte des Ferrocyankaliums erfährt.

a) Reaction von Fröhde¹⁾. Beim Behandeln von Albumin mit molybdänsäurehaltiger Schwefelsäure färbt sich dasselbe schön dunkelblau. Diese an sich recht empfindliche und charakteristische Reaction der Eiweisskörper ist zur Prüfung von Ferrocyankaliumniederschlägen absolut unbrauchbar, weil das Ferrocyankalium den Ausfall der Reaction vollständig beeinträchtigt, wie denn schon Fröhde hervorhebt, dass diese Reaction nur mit reinem Albumin gelingt.

b) Reaction von Adamkiewicz. Ferrocyankalium gibt, wie bekannt, mit Eisessig einen unbedeutenden Niederschlag. Beim Kochen unter Zusatz einiger Tropfen concentrirter Schwefelsäure löst sich derselbe und die Probe nimmt, sofern es sich um eine Eiweiss-Ferrocyankaliumverbindung handelt, die bekannte schön violette Färbung an. Die Reaction ist sehr empfindlich, und es genügt eine minimale Menge des Ferrocyankalium-Eiweissniederschlages für den positiven Ausfall derselben. Der Farbenton hängt von der Menge des Ferrocyankaliumniederschlages ab und es unterscheidet sich die Reaction auch hierin in nichts von der, welche eintritt, wenn man es mit reinen Albuminlösungen zu thun hat. Zu erwähnen wäre noch, dass die Probe, wenn es sich um Ferrocyankaliumeiweissniederschläge handelt, genügend lange gekocht werden muss.

¹⁾ Fröhde, Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 145, S. 376.

c) Reaction mit concentrirter Salzsäure (sogenannte Liebermann'sche Reaction). Auch der Ausfall dieser Reaction wird durch die Gegenwart von Ferrocyankalium in keiner Weise beeinträchtigt. Bringt man eine sehr geringe Menge eines Ferrocyankaliumniederschlags, den man durch Fällen von Eiweissarn erhalten hat, mit der Spitze eines Glasstabes in 1 bis 2 chem. concentrirter Salzsäure und kocht die Probe, so tritt deutlich violette Färbung auf. Da diese Probe indess selbst bei reinen Albuminlösungen oft nicht in charakteristischer Weise ausfällt und geringe Verunreinigungen den Farbenton wesentlich verändern, so dürfte ihre diagnostische Verwerthung nicht unbedingt zu empfehlen sein.

d) Xanthoproteinreaction. Während Ferrocyankalium mit concentrirter Salpetersäure schon in der Kälte — viel rascher beim Kochen — durch die sich bildenden Oxydationsproducte des Ferrocyankaliums eine grünrothe beziehungsweise dunkelrothe Färbung annimmt, bleibt die Lösung eines Ferrocyankaliumeiweissniederschlags in concentrirter Salpetersäure auch beim Kochen gelb gefärbt. Es kommt hier offenbar die Eiwirkung der Salpetersäure auf das Eiweiss — Xanthoprotein — zu Stande, ehe noch die Oxydationsproducte des Ferrocyankaliums entstehen. Die Reaction selbst ist indess nicht charakteristisch und sie wird hier nur der Vollständigkeit wegen angeführt. Zur diagnostischen Verwerthung eignet sie sich nicht.

e) Reaction von Max Schulze (mit concentrirter Schwefelsäure und einigen Tropfen verdünnter Rohrzuckerlösung). Die Gegenwart von Ferrocyankalium hindert den Ausfall der Reaction nicht. Dieselbe ist aber einerseits wenig empfindlich und ergibt andererseits nur selten ein befriedigendes Resultat, weil die Eiweisskörper — auch die Eiweiss-Ferrocyankaliumniederschläge — mit concentrirter Schwefelsäure allein rothbraune Farbstoffe bilden.

Als die empfindlichste empfiehlt sich nach meinen Erfahrungen die Millon'sche Reaction. Eine geringe Menge

eines Ferrocyankalium-Eiweissniederschlages wird, mit Millon's Reagens gekocht, sofort dunkel braunroth. Da wo die Eiweissmenge überhaupt so gross ist, dass sie mit Ferrocyankalium in Fällung geht, wird man durch die Prüfung mit Millon's Reagens stets die Gegenwart von Eiweiss unzweideutig feststellen können.

In weiterer Folge kommen dann die Biuretreaction, die sog. Liebermann'sche und die Adamkiewicz'sche Reaction in Betracht.

Den im Vorstehenden gemachten Mittheilungen fügt sich passend eine Erwiderung an, zu der ich durch eine von Malfatti veröffentlichte Arbeit¹⁾: «Zur Frage der physiologischen Albuminurie» veranlasst werde. Derselbe führt in seiner Arbeit aus, dass der von Posner für Serumeiweiss angesehene Körper Mucin sei und knüpft daran in einer Fussnote folgende Bemerkung: «Aus einer in neuester Zeit erschienenen Arbeit (Ztschr. f. phys. Chemie, Bd. XV) von Hugo Winternitz geht hervor, dass sogar dieser Körper im normalen Harn fehlt. Dieses gegen alle bisherigen Erfahrungen sprechende Resultat erklärt sich aber aus der geringen Zahl der Beobachtungen und den unzureichenden Versuchsanordnungen, die in der Arbeit verwendet wurden.»

Herr Malfatti hat zu seinen Versuchen Harne verwendet, welche nach seiner eigenen Angabe «die gewöhnlichen Eiweissreactionen nicht stark, aber deutlich ergeben hatten». Ich habe bei meinen Untersuchungen solche Harne, wie ausdrücklich betont wurde, grundsätzlich ausgeschlossen und nur Harne verwendet, welche keine der üblichen Eiweissreactionen gaben.

Schon daraus geht hervor, dass das den Untersuchungen zu Grunde liegende Material dort und hier ein ganz verschiedenes war, und dieser Umstand allein würde mich der Mühe entheben, auf die Kritik, welche Herr Malfatti an meine Arbeit und ihr Ergebniss geknüpft hat, überhaupt einzugehen. Da mir Herr Malfatti die Sache aber überaus

¹⁾ Wiener klin. Wochenschrift, No. 24, 1891.

leicht gemacht hat, so will ich mir die Gelegenheit nicht entgehen lassen, diesbezüglich noch Folgendes anzuführen: Der Körper, welchen Herr Malfatti beschreibt, wird durch Säuren und saure Salze gefällt; er ist, wie er des Weiteren ausführt, in Essigsäure und verdünnten Mineralsäuren unlöslich. Der Körper, mit welchem ich mich in letzter Instanz beschäftigt habe, ist in Essigsäure löslich und wird aus dieser Lösung durch Ferrocyankalium gefällt. Es handelt sich also hier um zwei ganz verschiedene Körper. Angenommen aber, es würde sich bei dem von mir untersuchten Körper wirklich um Mucin handeln, welches bei der Behandlung mit verdünnter Essigsäure ganz oder zum Theil in Lösung gegangen ist¹⁾, so müsste die Ferrocyankaliumfällung dieses Körpers die von mir als verwendbar bezeichneten Farbenreactionen der Protein-substanzen geben — und diese gibt sie nicht.

Dass Mucin im Harne überhaupt vorkommt, habe ich nicht nur nicht bestritten, sondern ich habe diesbezüglich sogar auf das Vorkommen eines Körpers im Alkoholniederschlage hingewiesen, der die Adamkiewicz'sche Reaction gibt und von dem ich die Vermuthung aussprach, dass es ein mucinartiger Körper sei²⁾. Näher darauf einzugehen hatte ich keine Veranlassung, weil mich nur die Frage beschäftigte, ob der in essigsaurer Lösung durch Ferrocyankalium fällbare, d. i. der von Posner als Serumeiweiss charakterisirte, Körper Eiweiss enthalte oder nicht.

Endlich macht mir Herr Malfatti den Vorwurf, dass die Zahl meiner Versuche unzureichend sei. Er vergisst dabei nur, was ich ermitteln wollte, nämlich ob jeder normale Harn Eiweiss enthalten müsse, wie Senator und Posner behauptet hatten. Gelang es mir festzustellen, dass auch nur einer der untersuchten Harne kein Eiweiss enthielt, so

¹⁾ Ich mache diese Annahme nur deshalb, weil Mucin von Essigsäure unter Umständen bei Gegenwart von Neutralsalzen gelöst wird. Streng genommen ist indess auch diese Möglichkeit hier kaum in Betracht zu ziehen, weil der Alkoholniederschlag vor dem Extrahiren mit Essigsäure nach dem Vorgang von Posner mit Wasser gewaschen wurde.

²⁾ L. c., Seite 201, Zeile 2–9.

genügte das, um zu beweisen, was ich beweisen wollte. Dass ich mich mit dem einmaligen Ergebniss nicht begnügte, brauche ich wohl kaum nochmals zu betonen.

Die Bemerkung, dass meine Versuchsanordnungen mangelhaft sind, hat Herr Malfatti in keiner Weise begründet und ich erachte mich daher einer darauf gerichteten Erwiderung überhoben.

Mit Rücksicht auf die vorgebrachten Thatsachen halte ich demnach nicht nur meine Angaben aufrecht, sondern ich weise auch Herrn Malfatti's Kritik als unbegründet mit aller Entschiedenheit zurück.

Phys.-chem. Institut zu Strassburg, Februar 1892.
