

Notiz zur α -Naphtholschwefelsäurereaktion des Traubenzuckers.

Von

L. v. Udránszky.

(Der Redaktion zugegangen am 6. Juli 1910.)

Gelegentlich der Besprechung der Verwendbarkeit der Furfurolreaktionen zu einer annähernden quantitativen Bestimmung von Kohlenhydraten im Harn habe ich die Empfindlichkeit der H. Schiff'schen¹⁾ Xylidineisessigreaktion und der von H. Molisch²⁾ für die Zwecke klinischer Harnuntersuchungen empfohlenen Zuckerreaktion mit α -Naphthol und konzentrierter Schwefelsäure einander vergleichend gegenübergestellt. Von der letzteren Reaktion schrieb ich:³⁾ «Gibt man zu einem Tropfen einer 0,06%igen Traubenzuckerlösung zwei Tropfen einer 15%igen alkoholischen Lösung von α -Naphthol, so trübt sich zunächst die Flüssigkeit. Gießt man nun vorsichtig unter das Gemisch etwa $\frac{1}{2}$ ccm konzentrierte Schwefelsäure in das Reagenzrohr, so stellt sich über dem grünen Saum (hervorgerufen durch die Einwirkung der Mineralsäure auf das α -Naphthol) nach kurzer Zeit ein dunkelvioletter Farbenring ein.»

G. Goldschmiedt⁴⁾ hat vor kurzer Zeit die Mitteilung gemacht, daß die Grünfärbung mit alkoholischer α -Naphthollösung und konzentrierter (von Salpetersäure und salpetriger Säure freier) Schwefelsäure eine spezifische Reaktion auf Glukuronsäure ist und den Nachweis derselben auch in deren Derivaten, in den gepaarten Glukuronsäuren und auch im normalen Harn⁵⁾ gestattet. Hierbei erwähnte er auch meine

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges., XX. Jahrg., S. 540—542, 1887.

²⁾ Sitzungsber. d. math.-naturwiss. Kl. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien, Bd. XCIII, II. Abteil. S. 912—923, 1886. — Zentralbl. f. d. mediz. Wiss., XXV. Jahrg., S. 34—36, 49—53, 1887.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XII, S. 384, 1888.

⁴⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LXV, S. 389—393, 1910.

⁵⁾ Es sei hier darauf hingewiesen, daß F. Penzoldt (Archiv für exp. Pathol. u. Pharmakol., Bd. XXI, S. 35, 1886) die Beobachtung machte, daß der nach Verabreichung von Naphthalin ausgeschiedene Harn, mit konzentrierter Schwefelsäure behandelt, eine prachtvolle Grünfärbung annimmt. Diese Grünfärbung des Naphthalinharns ist nach unseren heutigen Kenntnissen wohl auf den Gehalt desselben an gepaarten Glukuronsäure zurückzuführen.

zitierte Abhandlung und erklärte, daß er die von mir beobachtete und beschriebene Erscheinung trotz sehr oft wiederholter Versuche nie hat hervorbringen können, wenn er sie mit Zuckerlösungen anstellte, auch dann nicht, wenn er nur α -Naphthol anwendete. Dieses letztere färbt konzentrierte Schwefelsäure, wenn man die Lösung kurze Zeit stehen läßt, schwach violett. Macht man jedoch den Versuch mit normalem Harn, so kann man die Erscheinung jedesmal beobachten.

Die Bemerkung G. Goldschmiedts bezieht sich nach der Fassung der bezüglichen Stelle seiner Mitteilung im allgemeinen auf die von mir gegebene Schilderung der Farbenercheinungen der α -Naphtholschwefelsäurereaktion von Traubenzuckerlösungen. Gerne gebe ich zu, daß der von mir beschriebene grüne Saum, von dem ich übrigens bereits erkannt habe, daß derselbe gar nicht von der Anwesenheit von Traubenzucker im Reaktionsgemisch abhängig ist, von der nicht völligen Reinheit der von mir verwendeten konzentrierten Schwefelsäure herrührt. E. Luther¹⁾ hat ja bald nach der Veröffentlichung meiner Arbeit mitgeteilt, daß die geringsten Spuren von Salpetersäure oder salpetriger Säure, welche der konzentrierten Schwefelsäure beigemischt sind, Spuren, die man kaum mit einer der bis zu jener Zeit angewendeten Methoden nachweisen konnte, schon genügen, um beim Zusatz von α -Naphthol zur konzentrierten Schwefelsäure eine Grünfärbung hervorzurufen. E. Luther hat also hiermit zugleich eine neue Reaktion auf Salpetersäure, salpetrige Säure und deren Salze erkannt, welche die zum Zwecke des Nachweises dieser Substanzen bis dahin bekannt gewordenen Reaktionen an Schärfe bei weitem übertrifft.²⁾ Ein etwaiger Gehalt der konzentrierten Schwefelsäure an Salpetersäure oder salpetriger Säure muß in der Tat strengstens gemieden werden, wenn man diese wenig erwünschte Störung der die α -Naphtholschwefelsäurereaktion von Furfurol, Kohlenhydraten oder anderen furfurolbildenden Körpern begleitenden Farbenercheinungen vermeiden will. G. Goldschmiedt betont es auch ausdrücklich,³⁾ daß die von ihm beschriebene Reaktion der Glukuronsäure mit α -Naphthol und

¹⁾ Über das Vorkommen von Kohlenhydraten im normalen Harn, Inaug.-Dissert. (Freiburg i. Br.), gedruckt in Berlin bei L. Simion, 1890, S. 9. — Siehe auch S. 10 die auf die Inaug.-Dissert. von L. Mayer (Erlangen 1886) bezüglichen Bemerkungen E. Luthers.

²⁾ G. Goldschmiedt scheint die Arbeit E. Luthers übersehen zu haben. Die Bemerkung C. Neubergs (Diese Zeitschrift, Bd. XXXI, S. 565, 1901), daß die Verwendung von salpetrigsäurehaltiger Schwefelsäure bei der in wässrigen Kohlenhydratlösungen ausgeführten α -Naphtholschwefelsäurereaktion an der Berührungsfläche der Flüssigkeiten die Bildung eines hellgrünen Saumes neben dem violetten Ring veranlaßt, stammt aus viel späterer Zeit als die Arbeit E. Luthers.

³⁾ l. c. S. 391.

konzentrierter Schwefelsäure nicht etwa auf einen Gehalt dieser Mineralsäure an Salpetersäure oder salpetriger Säure zurückzuführen ist.

Wenn ich auch gerne zugebe, daß der seinerzeit von mir beschriebene grüne Saum bei Verwendung von reiner bezw. von Salpetersäure und salpetriger Säure freier konzentrierter Schwefelsäure in mit α -Naphthol versetzten Traubenzuckerlösungen nicht entsteht und hiernach aus der Reihe der Farbenerscheinungen, welche bei der α -Naphthol-schwefelsäurereaktion des Traubenzuckers (und anderer Kohlenhydrate) auftreten, zu streichen ist — wenn ich also G. Goldschmiedt in diesem Teile seiner Bemerkung vollauf recht gebe, so muß ich demgegenüber betonen, daß es mich sehr überrascht, daß er die allmähliche Entstehung des violetten Ringes an der Berührungsfläche der Flüssigkeiten nicht beobachten konnte. Die Nuance bezw. die Lebhaftigkeit der Violettfarbe, sowie auch die Zeit, die bis zum Entstehen des violetten Ringes verstreicht, ist allerdings wesentlich von der Konzentration der verwendeten Zuckerlösung bezw. von der absoluten Menge des Wassers im Reaktionsgemisch, sowie auch von der Vorsicht, mit welcher man die konzentrierte Schwefelsäure den anderen Flüssigkeiten unterschichtet, abhängig — jedoch ist der violette Ring in mit nicht allzusehr verdünnten Lösungen bezw. zu geringer Menge von Substanz ausgeführten Versuchen stets zu sehen. Während ich als Empfindlichkeitsgrenze der Reaktion, bei Verwendung von einem Tropfen der Zuckerlösung 0,000028 bis 0,000032 g Traubenzucker angab, hat E. Luther,¹⁾ der mit verfeinerter Methodik arbeitete, selbst noch bei Verwendung von 0,00001 g Traubenzucker (ein Tropfen einer 0,02%igen Traubenzuckerlösung) den violetten Ring, wenn auch schwach, jedoch noch wahrnehmbar sich entwickeln gesehen.

Ich will es keineswegs verschweigen, daß die von mir seinerzeit gewählte relative Menge der Reagenzien und der auf etwaigen Kohlenhydratgehalt zu prüfenden Lösung insofern keine bequeme ist, daß der eine Tropfen der wässrigen Lösung (von Zucker usw.) und die zwei Tropfen der alkoholischen α -Naphthollösung insgesamt eine recht geringe Menge von alkoholisch-wässriger Flüssigkeit im Verhältnis zur Menge der darunter zu schichtenden konzentrierten Schwefelsäure ausmachen. Auch kann das Auskrystallisieren oder Ausfällen des α -Naphthols, sowie ein Überfluß an dieser Substanz im Reaktionsgemisch die Reaktion stören. Entnimmt man jedoch die alkoholische α -Naphthollösung einem dünnen Tropfenzähler, sodaß die Tropfen dieser Lösung bei weitem kleiner sind, als die der auf etwaigen Kohlenhydratgehalt zu

¹⁾ l. c. S. 13. Bezüglich anderer Einzelheiten der bei der Reaktion beobachtbaren Farbenerscheinungen sei hier auch noch auf die Arbeit B. Reinholds (Archiv f. d. ges. Physiol., Bd. CIII, S. 581—618, 1904) hingewiesen.

prüfenden wässrigen Lösung, und wählt man zur Reaktion recht enge (innere Lichte etwa 10 mm) Reagenzröhrchen, so läßt sich das Entstehen des violetten Farbénringes an der Grenze der konzentrierten Schwefelsäure und der über derselben sich ansammelnden alkoholisch-wässrigen Flüssigkeit sicher und scharf beobachten. Ich habe also keinen Grund, von dem seinerzeit von mir Beschriebenen mehr abstreiten zu lassen, als daß der grüne Saum, wie es soeben auseinandergesetzt wurde, bei der Prüfung von Zuckerlösungen mit α -Naphthol und konzentrierter Schwefelsäure sich nicht einstellt, wenn diese Mineralsäure von Salpetersäure und salpetriger Säure frei ist.

G. Goldschmiedt empfiehlt zum Nachweise von Glukuronsäure und deren Verbindungen im Harn das folgende Verfahren: ¹⁾ $\frac{1}{2}$ —1 ccm Harn wird mit 2 Tropfen der üblichen α -Naphthollösung versetzt und mit 3—4 ccm konzentrierter Schwefelsäure vorsichtig unterschichtet, oder noch besser, die mit Naphthol gemischte Harnprobe sehr vorsichtig auf die Schwefelsäure fließen gelassen; an der Berührungsfläche der Schichten erscheint ein violetter Ring, der beim ruhigen Stehen nach der Harnseite zu an Breite zunimmt, während infolge Diffusion des Harns in die Schwefelsäure diese von der Grenzfläche an nach unten sich grün färbt; manchmal sieht man auch dunkelgrüne Schlieren sich nach unten verbreiten. Weiterhin schreibt er: $\frac{1}{10}$ ccm Harn gibt die Reaktion sehr deutlich, und zwar nicht nur den grünen Ring bezw. die Schlieren, sondern, wenn man die Probe, ohne sie gemischt zu haben, etwa $\frac{1}{4}$ Stunde ganz ruhig stehen läßt und dann durchmischt, färbt sich die ganze Flüssigkeit smaragdgrün. In dieser Weise konnte ich die Reaktion noch sehr schön eintreten sehen, wenn ich nur einen Tropfen Harn verwendete. Nur in ganz vereinzelt der in großer Zahl geprüften Harne gesunder Individuen versagte sie dann; ganz im Stiche gelassen hat die Reaktion in keinem einzigen Falle.

Die verhältnismäßig große Menge ($\frac{1}{2}$ —1 ccm) von Harn, die G. Goldschmiedt behufs Prüfung derselben auf Glukuronsäure zur Reaktion für gewöhnlich verwendet, gibt insoferne zu Bedenken Veranlassung, als im Harn — wie bekannt — die mit dem Trinkwasser und der Nahrung aufgenommenen Nitrate unverändert ausgeschieden werden. Sind nun die salpetersauren Salze (oder die aus ihnen beim Stehen des Harns infolge von Bakterienwirkung entstehenden Nitrite) im Harn in größerer Menge enthalten, so müssen sie, bei der bedeutenden Empfindlichkeit der α -Naphtholschwefelsäurereaktion dieser Substanzen, eine grüne Färbung selbst dann bedingen, wenn man zur Reaktion möglichst reine Schwefelsäure verwendet und der Harn Glukuronsäureverbindungen gar nicht oder nur in Spuren enthalten sollte. Ist aber die Empfindlichkeit der grünen Farbenreaktion der Glukuronsäure mit α -Naphthol und Schwefelsäure derjenigen Reaktion, welche die Salpetersäure und sal-

¹⁾ l. c. S. 392.

petrige Säure oder deren Salze mit α -Naphthol und Schwefelsäure in der gleichen Farbe geben, überlegen, so dürfte sie bei Verwendung möglichst kleiner Harnmengen (Tropfen!) mit größerer Sicherheit verwendet werden.

Bis aber diese Frage nicht untersucht wird, bis die Spektralerscheinungen der Grünfärbung, die bei der α -Naphtholschwefelsäurereaktion der Glukuronsäure, sowie auch der Salpetersäure und der salpetrigen Säure entsteht, nicht analysiert sind, und vielleicht eben die spektroskopische Prüfung eine Differenzierung gestattet, dürfte es in Fällen, wo ein an Nitraten (bezw. Nitriten) reicher und an Glukuronsäureverbindungen armer Harn vorliegt, schwer fallen, stets sicher zu entscheiden, ob die bei der Prüfung des Harns nach G. Goldschmiedt sich einstellende Grünfärbung den Gehalt des Harns an Glukuronsäureverbindungen oder aber einen Gehalt desselben an Nitraten (bezw. salpetrigsauren Salzen) anzeigt.
