

## Bemerkungen zur Mikrobestimmung des Traubenzuckers nach dem Verfahren von J. Bang.

Von  
**Albrecht Mertz.**

(Aus der Univ.-Kinderklinik Freiburg i. Br., Dir. Prof. C. T. Noeggerath.)  
(Der Redaktion zugegangen am 8. September 1920.)

Die Bestimmung des Traubenzuckers nach der letzten Modifikation, die Bang<sup>1)</sup> für seine bekannte Mikromethode angegeben hat, führte in den beiden kürzlich in dieser Zeitschrift veröffentlichten Nachuntersuchungen durch Oppler<sup>2)</sup> und Cohen Tervaert<sup>3)</sup> zu sehr ungünstigen Ergebnissen. Der Reduktionsfaktor, der nach Bang unter Zugrundelegung einer n/100 Jodlösung bei den verschiedensten Dextrosemengen ganz gleichmäßig 2,8 für 0,01 mg Dextrose betragen soll, nahm bei der Nachprüfung durch Oppler mit der angewandten Glukosemenge ebenfalls ab, aber nicht einmal proportional, so daß sich auch keine empirische Reduktionstabelle aufstellen ließ. Davon abgesehen, waren Dauer und Intensität des Kochens von großem Einfluß auf das Ergebnis, genau wie bei dem älteren Verfahren<sup>4)</sup>, das Bang doch besonders aus diesen Gründen der Umarbeitung unterzogen hatte<sup>5)</sup>.

Zu ähnlichen Ergebnissen gelangte Cohen Tervaert. Auch bei seinen Versuchen zeigte sich der wesentliche Einfluß von Dauer und Intensität auch des indirekten Kochens

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. Bd. 92, S. 344 (1918).

<sup>2)</sup> Diese Zeitschr. Bd. 109, S. 57 (1920).

<sup>3)</sup> Diese Zeitschr. Bd. 110, S. 41 (1920).

<sup>4)</sup> Bang, Mikromethoden zur Bestimmung einiger Blutbestandteile. Bergmann, Wiesbaden 1916.

<sup>5)</sup> Biochem. Zeitschr. Bd. 87, S. 264 (1918).

mit Wasserdampf; den Reduktionsfaktor fand er gleichfalls recht wechselnd und im Mittelwert mit 2,2 geringer als 2,8.

Nach den Protokollen der genannten Autoren muß also in der Tat die letzte Modifikation der Methode, welche die saure Jodatlösung benutzt, als auch für klinische Zwecke nicht mehr genau genug bezeichnet werden.

Das ältere Bangsche Verfahren, mit der direkten Titration mittels  $n/100$  oder  $n/200$  Jodlösung, ist nun freilich hinreichend nachgeprüft und zumal nach Einführung der Uranylenteiweißung besonders auch von Feigl<sup>1)</sup> in den Grenzen einer Reduktionsmethode im Gesamtblut als ein Präzisionsverfahren wiederholt gerühmt worden. Um eine für den Kliniker brauchbare Mikromethode sind wir also nicht verlegen. Die Gründe aber, die Bang zur Umarbeitung auf die neue Modifikation mit indirektem Titrieren und Erhitzen bewogen haben, insbesondere der wechselnde Gasdruck resp. Gasbeschaffenheit und die Schwierigkeit der Titration unter  $\text{CO}_2$ , bestehen unvermindert fort. Ich selbst mußte aus eben diesen Gründen von dem älteren Verfahren wieder abgehen und habe zum Zwecke klinischer Blutzuckeruntersuchungen von Rominger und mir, deren Ergebnisse demnächst veröffentlicht werden, die Jodatmethode mit dem indirekten Kochen aufgegriffen. Allerdings habe ich noch nicht die allerletzte Modifikation angewandt; bei dieser schlug ja Bang statt der alkalischen eine saure Jodlösung vor, weil die alkalische Lösung mit der Zeit auf ihm selbst unerklärliche Weise ihre Reaktionsfähigkeit allmählich einbüßte. Doch stellt diese letzte auch von Oppler und Cohen Tervaert ihren Nachprüfungen zugrunde gelegte Abänderung prinzipiell und in ihrem theoretischen Reaktionsverlaufe den früheren Angaben gegenüber kein Novum dar.

Um so mehr müssen die unbefriedigenden und wechselnden Ergebnisse dieser Autoren erstaunen im Gegensatz zu meinen sehr guten Erfahrungen, die ich in der folgenden Tabelle vorlegen möchte. Die Tabelle umfaßt die sämtlichen Einzelbestimmungen mit reiner Dextroselösung, die als Kontrollen zu verschiedener Zeit ausgeführt wurden.

<sup>1)</sup> Zentralblatt für innere Medizin Bd. 41, S. 17 (1920).

Verwandte Dextrose (in 0,4%ige O-Lösung) mg	Titer der Thiosulfatlösung, gemessen am Verbrauch für 1 ccm n/100 Jod-Lsg	Verbrauch an Thiosulfatlösung in ccm/100	Angangswert = durchschnittlicher Verbrauch der Leerprobe von Thiosulfatlösung in ccm/100	Reduktionsfaktor, entsprechend dem Faktor 2,8 für 0,01 mg Dextrose bei n/100 Jod, auf den Titer der Thiosulfatlösung umgerechnet	Gefundene Dextrose mg
0,06	2,09	372	407	5,85	0,059
0,06	2,09	373	407	5,85	0,058
0,08	2,09	360	407	5,85	0,080
0,08	2,09	358	407	5,85	0,083
0,1	2,09	341	400	5,85	0,100
0,1	2,09	342	400	5,85	0,099
0,1	2,28	380	444	6,30	0,101
0,1	2,28	381	444	6,30	0,100
0,1	2,34	392	456	6,50	0,098
0,14	2,09	324	407	5,85	0,141
0,14	2,09	325	407	5,85	0,140
0,16	2,09	315	407	5,85	0,157
0,16	2,09	314	407	5,85	0,159
0,2	2,09	288	407	5,85	0,203
0,2	2,09	282	400	5,85	0,201
0,2	2,09	286	400	5,85	0,194
0,2	2,28	316	444	6,30	0,203
0,2	2,28	320	444	6,30	0,196
0,24	2,09	269	407	5,85	0,236
0,24	2,09	266	407	5,85	0,241
0,24	2,09	265	407	5,85	0,242
0,24	2,09	267	407	5,85	0,239
0,3	2,09	225	400	5,85	0,299
0,3	2,09	222	400	5,85	0,304
0,3	2,28	255	444	6,30	0,300
0,4	2,09	174	407	5,85	0,398
0,4	2,09	175	407	5,85	0,396

Zur praktischen Anwendung der Methode darf ich noch folgendes erwähnen: Unbedingt ist es erforderlich, zur Berechnung der gefundenen Dextrosewerte die Eigenreduktion der verwandten Lösungen vorher in Leerproben jeweils zu bestimmen. Wie aus der Tabelle in Spalte 4 ersichtlich ist, schwankte diese Eigenreduktion bei verschiedenen Lösungen nicht ganz unerheblich und war immer etwas größer, als Bang sie angibt. Bei den gleichen Lösungen hat sich aber dieser Wert bei dem Altern derselben auch jetzt im Sommer nicht geändert (während dreier Monate). Der für die Leerprobe durchschnittlich gefundene Wert der verwandten Lösungen stellt nun den Ausgangswert dar für die Berechnung der gefundenen Dextrosemenge, indem von ihm der Thiosulfatverbrauch der Analyse subtrahiert und die dadurch gefundene relative Jodzahl durch den entsprechenden Reduktionsfaktor dividiert wird. Da eine  $n/100$  oder  $n/200$  Thiosulfatlösung auch bei Anwendung des Natronkalkrohres leicht einen sinkenden Titer aufweist, so erwies es sich als sehr zweckmäßig, von einer konzentrierteren Thiosulfatlösung auszugehen und daraus für jede Analysenreihe die zur Mikrotitration bestimmte Lösung jedesmal frisch zu bereiten.

Selbstverständlich ist auch diese Stammlösung vorher genauestens auszutitrieren; es beträgt der Titer der z. Zt. von uns verwandten Thiosulfatlösung von Merck z. B.  $n/10,45$  statt  $n/10$ . Von der daraus hergestellten 20fach verdünnten Arbeitslösung werden demgemäß für die zugesetzten 2 ccm  $n/100$  Jodatlösung statt 4,00 ccm 4,18 ccm benötigt und der Reduktionsfaktor erhöht sich von 2,8 bei einer  $n/100$  Thiosulfatlösung auf 5,85. Daher die scheinbar verschiedenen Werte für den Reduktionsfaktor in Spalte 5 der Tabelle. Unsere Thiosulfatstammlösung hat sich bisher auf Eis in ihrem Titer während mehrerer Monate nicht geändert.

Die Kochzeit habe ich empirisch auf 5 Minuten festgelegt, während Bang nur 4 Minuten angibt. Schwankungen der Kochzeit um  $\frac{1}{2}$  Minute mehr oder weniger üben noch keinen nennenswerten Einfluß auf das Analyseergebnis aus. Was endlich die Kochintensität betrifft, so hat sie zwar

ausgiebig zu sein, kann dann aber sehr weitgehend schwanken, wie das z. B. bei unserem wechselnden Gasdruck ständig der Fall ist, ohne das Ergebnis merklich zu ändern.

Die eigentümliche Erscheinung, daß die alkalische Jodatlösung das Kupferoxydul nach und nach nicht mehr oxydieren soll, habe ich auch jetzt im Sommer, auf drei Monate hinaus wenigstens, nicht beachtet. Die ersten Lösungen allerdings, die wir uns hier bequemlichkeitshalber hatten anfertigen lassen, zeigten in der Tat eine ganz unzureichende Reduktionsfähigkeit, die vielleicht auch auf dem gleichen Fehler der Jodatlösung beruhte. Erst nach Selbstherstellung der Lösungen mit frisch umkristallisierten Reagentien und später mit von Merck direkt bezogenen Lösungen erfolgte die einwandfreie und gleichmäßige Reduktion ganz in dem Maße, wie es Bang angab, d. h. 0,28 ccm Verbrauch an n/100 Jod für 0,01 mg Zucker.

Abschließend darf ich nur noch kurz anführen, daß bei unseren Blutzuckeruntersuchungen sich die verwandte Modifikation bestens bewährte. Als wohl unvermeidliche Folge wechselnder Zusammensetzung der auf die Filterpapierchen aufzusaugenden Blutstropfen ist die Fehlerquelle hier zwar höher als bei Bestimmung reiner Glukoselösung, bei Doppelbestimmung kann die Differenz bis 10% der ermittelten Werte betragen, meist ist sie aber bedeutend geringer. Das genügt durchaus für praktische klinische Zwecke. Überdies wäre gerade für Serienuntersuchungen an Säuglingen eine Methode, die Blutmengen von 3 ccm verlangt, wie sie Richter-Quittner<sup>1)</sup> als allein ausreichend glaubt annehmen zu müssen, völlig ausgeschlossen.

### Zusammenfassung.

I. Die Bangsche Mikroreduktionsmethode zur Bestimmung des Trauben- (Blut-) Zuckers ergibt in der Modifikation, die bei indirektem Kochen eine alkalische Jodatlösung verwendet<sup>2)</sup>,

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. Bd. 96, S. 92 (1919).

<sup>2)</sup> Biochem. Zeitschr. Bd. 87, S. 264 (1918).

einen durchaus gleichmäßigen Reduktionsfaktor, der bei der Nachprüfung mit Dextrosemengen von 0,06 bis 0,4 mg genau dem von Bang angegebenen Wert entspricht. Die angewandten Dextrosemengen umfassen völlig die nötige Variationsbreite für klinische Blutzuckeruntersuchungen bei Verwendung von 130 bis 150 mg Blut.

II. Die von Bang erstrebte Befreiung von der bei der älteren Methode unumgänglichen ganz genauen Kochdauer und -intensität ist mittels des indirekten Erhitzens und der Anwendung der alkalischen Jodatlösung gelungen, und damit die praktische Anwendbarkeit des Verfahrens sehr gefördert.

III. Bedenken gegen die Haltbarkeit der alkalischen Jodatlösung sind bei Anwendung reiner Reagentien unbegründet.

IV. Das von Oppler (l. c.) herbeigewünschte Verfahren, „welches die quantitative Bestimmung kleinster Werte in zuverlässiger Weise ermöglicht“, liegt in der verwandten und hiermit nochmals empfohlenen Form der Bangschen Mikromethode bereits vor.

---