mehr orangerote Färbung. Die Opiumalkaloide, namentlich Morphin, Kodein, Narkotin, Narzein und Papaverin, verhalten sich gegen Perhydrol-Schwefelsäure so, dass sie, auch bei Gegenwart von etwas Platinol, orangerote bis purpurrote, zum Teil auch nur dunkelbraungelbe Färbungen liefern, die sehr unbeständig sind. Berberin färbt sich mit dem Reagens dunkel kirschrot, die Farbe geht allmählig in braunrot über. Hydrastin erzeugt eine intensiv schokoladenbraune Färbung, die unter dem Einfluss von wenig kolloidaler Platinlösung besonders rasch und intensiv eintritt. Emetin liefert eine starke dunkel orangerote Färbung. Das Nikotin gibt mit dem Perhydrol-Reagens eine dem Hydrastin ähnliche, dunkel schokoladenbraune Färbung. Zum Nachweis von Koffein oder Theobromin kann man gleichfalls mit Vorteil Perhydrol anwenden; verdampft man kleine Mengen dieser Alkaloide mit einer Mischung von reiner Salzsäure und etwas Perhydrol, am besten unter Zusatz von wenig kolloidaler Platinlösung, in einem Schälchen auf dem Wasserbade, so hinterbleibt der bekannte hell zwiebelrote Rückstand, der bei Berührung mit Ammoniak die purpurrote Färbung annimmt; die Reaktion tritt bei diesem Verfahren sehr sicher und regelmäßig ein, weil durch Einwirkung von Perhydrol auf Salzsäure sich das Chlor im statu nascendi bildet, während bei Behandlung und Verdunstung mit Chlor- oder Bromwasser häufig eine allzu rasche Verflüchtigung des Halogens erfolgt. Behandelt man Chinin und Chinidin in der eben angegebenen Weise mit Salzsäure und Perhydrol, so liefert der Verdampfungsrückstand mit Ammoniak unter gewissen Bedingungen die grüne Thalleiochinreaktion, während in der Mehrzahl der Fälle die Reaktion ausbleibt; der Grund dieses Verhaltens der Chinabasen gegen das Reagens bedarf noch der Aufklärung.

3. Auf Physiologie und Pathologie bezügliche Methoden.

Von

K. Spiro.

Eine Mikroanalyse des Zuckers im Blut hat L. Michaelis¹⁾ ausgearbeitet. Das Prinzip dieser Methode ist 1. Enteiweissung des Vollblutes durch Kombination der Hitzekoagulation und der Adsorption durch Eisenhydroxyd; die notwendige Verdünnung des Blutes wird da-

¹⁾ Biochem. Zeitschrift **59**, 166.

durch geringer, als wenn man mit Eisenhydroxyd allein enteiweisst. 2. Ausarbeitung der Bertrand'schen Zuckerbestimmung¹⁾ für kleinste Zuckermengen. Die Methode gestaltet sich folgendermaßen: Das Blut kann aus der Fingerkuppe entnommen werden. Man fange das Blut in einem Schälchen auf, in das man einige Körnchen Natriumfluorid getan hat. Es genügt zu einer einfachen Bestimmung 1 *ccm*; etwas über 2 *ccm* oder 35—40 Tropfen reichen daher für eine Doppelbestimmung. Das Schälchen mit dem Blut wird während des Auffangens dauernd leicht bewegt, um das Natriumfluorid zu verteilen. Nunmehr messe man mit einer genauen Pipette 1 *ccm* Blut (eventuell auch 2 *ccm*) ab und gebe sie in einen 100 *ccm* fassenden birnenförmigen, gewöhnlichen Erlenmeyerkolben, der vorher mit genau 10 *ccm* destilliertem Wasser beschickt worden ist, wasche die Pipette durch mehrmaliges Aufziehen und Ausblasen mit diesem Wasser gut aus und entleere sie zum Schluss so vollkommen wie nur möglich. Dann fülle man die Flüssigkeit mit Wasser auf 12 *ccm* auf. Nunmehr wird der Kolben unter häufigem Umschwenken auf freier Flamme (über einer Schicht Asbestpapier) bis zum Sieden erhitzt, unter Umschütteln etwa 2 Sekunden im Sieden erhalten und dann vom Feuer genommen; hierauf wird ganz allmählich, langsam, tropfenweise und unter lebhaftem dauerndem Umschwenken mit 7,5 *ccm* einer auf das Fünffache verdünnten Lösung von Liquor ferri oxydati dialysati (Riedel) versetzt, schliesslich 0,5 *ccm* einer 0,5-prozentigen Lösung von Magnesiumsulfat zugesetzt und leicht umgeschüttelt. Das Magnesiumsulfat hat einen doppelten Zweck. Erstens koaguliert es das überschüssige Eisenhydroxyd; zweitens bringt das nachher aus ihm entstehende Magnesiumhydroxyd beim Abzentrifugieren eine erwünschte, flockige Beschaffenheit des Bodensatzes hervor. Dann wird durch ein gewöhnliches Filter in einem Trichter von mittlerer Grösse abfiltriert. Das Filtrat muss wasserklar sein und spielend leicht durchfiltrieren. Man filtriere es in einen hohen Messzylinder von 20 *ccm* Inhalt. (Eventuell überzeuge man sich an einem kleinen Pröbchen von der gelungenen Enteiweissung durch eine Probe mit Sulfosalizylsäure.) Von dem Filtrat bringe man 12,5 *ccm* in ein Kochkölbchen von leicht konischer, fast zylindrischer Form. (Höhe desselben etwa 10 *cm*.) Hierzu gebe man 0,7 *ccm* der Bertrand-

1) Bull. de la soc. chim de Paris [3] 35, 1285; Bull. des Sciences Pharmacol. 14, 7.

schen Seignettesalzlösung¹⁾ und 0,3—0,5 ccm der Bertrand'schen Kupfersulfatlösung²⁾. Nun erhitze man zunächst mit grosser Flamme, später mit kleiner Flamme zum Sieden und halte die Flüssigkeit, bedeckt mit einem Uhrsälchen, 3—3½ Minuten lang in schwachem Sieden. Jetzt giesse man die noch warme Flüssigkeit in ein etwa 30 ccm fassendes Zentrifugierglas und wasche den Rest zweimal mit 1 ccm ausgekochtem destilliertem Wasser nach. Das Kochkölblehen wird sofort mit 1 ccm der Bertrand'schen Eisenlösung³⁾ versetzt und zunächst aufbewahrt. Das Zentrifugierröhrchen wird sofort zentrifugiert, bis der Niederschlag fest am Boden haftet. Man lasse die Zentrifuge sehr langsam ohne künstliche Arretierung auslaufen. Man hebe mit einer Pipette, die etwa wie eine Augentropfpipette, aber mit kapillarer Spitze eingerichtet ist, und deren Öffnung man stets dicht unter dem Flüssigkeitsniveau hält, die Flüssigkeit so weit ab, dass ihre Höhe nur noch etwa 2 bis 3 cm beträgt, und zentrifugiere nochmals 2 bis 5 Minuten. Dann klebt der Niederschlag gewöhnlich gut am Boden. Durch verlängertes Zentrifugieren bei der ursprünglichen Höhe der Flüssigkeitsschicht ist dieses Kleben meist nicht zu erreichen. Nun giesse man vorsichtig die Flüssigkeit ab, soweit es ohne Verlust des Niederschlags möglich ist. Das geht in der Regel so weit, dass keine sichtbare Menge der Flüssigkeit mehr vorhanden ist. Die in dem Sediment und an den Wänden noch haftenden Reste schaden nicht. Grössere Mengen zurückbleibender Flüssigkeit bewirken Unschärfe des Endpunktes beim Titrieren und etwas zu hohe Werte. Man wische den Rand des Glases mit einem Tuch aus und giesse die in dem Kochkolben aufbewahrte Eisensulfatlösung sofort in das Zentrifugierglas und wasche sie zweimal mit je 1 ccm ausgekochtem destilliertem Wasser nach. Durch leichtes Schwenken wird der Niederschlag in Lösung gebracht und sofort mit $\frac{n}{100}$ -Permanganat titriert, die an demselben Tage aus $\frac{n}{10}$ -Permanganat durch Verdünnen hergestellt worden ist. Man benutze eine Bürette, die 3 ccm fasst und in $\frac{1}{100}$ ccm eingeteilt ist. Die Grösse der aus dem Glashahn fallenden Tropfen soll etwa 0,028 ccm betragen. Man lasse die Permanganatlösung erst rasch, dann langsamer hinzu und bewege das Zentrifugierglas nicht lebhafter, als zur Verteilung der Tropfen eben nötig ist. Man beobachte gegen eine rein weisse

1) 200 g Seignettesalz und 150 g Natriumhydroxyd im Liter.

2) Wässrige Lösung von Kupfersulfat, 40 g im Liter enthaltend.

3) 50 g Ferrisulfat und 200 g Schwefelsäure im Liter.

Unterlage. Nähert man sich dem Ende der Titration, so beachte man genau folgende Vorschrift, die sich als die zweckmäßigste erwiesen hat. Man lasse zwei Tropfen Permanganat auf einmal hinzu, verteile sie durch ganz leichte Bewegung, halte nun das Zentrifugierglas gegen die weisse Unterlage ganz ruhig und beobachte die Entfärbung. Man lässt zunächst so lange je 2 Tropfen hinzu, bis die auf diese Weise beobachtete Färbung 5—7 Sekunden überdauert. Nunmehr schüttle man heftig, und zwar wiederum 5—7 Sekunden lang. Tritt in dieser Zeit nachträglich völlige Entfärbung ein, so gebe man noch zwei Tropfen zu; ist die Entfärbung nicht vollkommen, so füge man nur noch 1 Tropfen hinzu. Im Zweifelsfalle setze man eher einen Tropfen zu viel als zu wenig zu. Jetzt lese man den Stand der Bürette ab. Auf diese Art der Ablesung bezieht sich folgende empirische Eichung.

Permanganat	Zucker	Permanganat	Zucker
<i>ccm</i>	<i>mg</i>	<i>ccm</i>	<i>mg</i>
0,5	0,39	1,8	0,84
0,6	0,42	1,9	0,88
0,7	0,45	2,0	0,93
0,8	0,48	2,1	0,97
0,9	0,51	2,2	1,01
1,0	0,55	2,3	1,04
1,1	0,58	2,4	1,08
1,2	0,62	2,5	1,12
1,3	0,65	2,6	1,15
1,4	0,69	2,7	1,19
1,5	0,72	2,8	1,23
1,6	0,76	2,9	1,27
1,7	0,80	3,0	1,31

Nach Maßgabe des zur Bestimmung verwendeten aliquoten Teiles des Filtrates wird dann die gefundene Zuckermenge zur prozentischen Berechnung benutzt. Betrug der aliquote Teil also 10 *ccm*, so enthält die für die Bestimmung verwendete gesamte Blutmenge das Doppelte der gefundenen Milligramme Zucker u. s. w.

Ein ähnliches Verfahren haben Kraus und Adler¹⁾ ausgearbeitet, wobei die Enteiweissung durch Kombination der Hitzekoagulation und der Adsorption durch Eisenhydroxyd erzielt wurde. Die Titration mit der Zehntel-Fehling-Lösung wurde durch eine solche mit einer Rhodankalium-Kupferlösung ersetzt.

¹⁾ Biochem. Zeitschrift 60, 344.