

(Aus d. Laboratorium d. med. Klinik zu Bonn. Director: Geheimrath Fr. Schultze.)

Ueber den quantitativen Nachweis der leicht angreifbaren Kohlehydrate (Stärke und ihrer Abkömmlinge) in menschlichen Fäces.

Von

Dr. **J. Strasburger**, Privatdocent.

Im Gegensatz zu der ausserordentlich grossen Menge von Stickstoff- und Fettbestimmungen, die in den Fäces bei Stoffwechsel- und Ausnutzungsversuchen vorgenommen wurden, ist der quantitative Nachweis von Kohlehydraten im Stuhl bisher zumeist vernachlässigt worden.

Es hängt dies damit zusammen, dass die Frage nach dem Umsatz und der Ausnutzung des Eiweisses im Vordergrund des Interesses stand. Da nun des Weiteren die Menge der nicht resorbirten Kohlehydrate im Vergleich zu dem, was von anderen Nährstoffen übrig bleibt, geringfügig zu sein pflegt und der directe Stärkenachweis im Koth mit vielen Umständen verknüpft ist, so schienen genaue Bestimmungen in dieser Richtung nicht die aufgewandte Mühe zu rechtfertigen.

So kommt es, dass bei sehr vielen Koth-Untersuchungen die Kohlehydrate überhaupt unberücksichtigt blieben. In anderen, besonders den grundlegenden Ausnutzungsversuchen, wurden sie auf indirectem Wege als sogenannte stickstofffreie Extractivstoffe berechnet. Es geschah dies in der Weise, dass von der Trockensubstanz der Fäces die Werthe für Eiweiss, Fett und Asche in Abzug gebracht wurden. Dass dies nicht ganz correct sei, bemerkt schon Rubner (1), denn man findet einen solchen Rest auch in Kothsorten, welche von einer Nahrung stammen, die, wie Fleisch, nur Spuren N-freier Extractivstoffe enthält. Es sind also in diesen Fällen die Kohlehydrate in den Fäces zu hoch berechnet.

Aber auch wenn man von diesem Fehler absehen will und berücksichtigt, dass sich unter diesen Extractivstoffen Pflanzensäuren,

Bitter- und Farbstoffe etc. befinden können, so ist eine solche Bestimmung der Kohlehydrate von geringem Werth, wenn es gilt, sich über die verdauende und ausnutzende Thätigkeit des Darmes zu orientiren. Denn unter der Flagge „Kohlehydrate“ segeln einerseits Stoffe wie Gummi, Dextrin, verschiedene Zuckerarten, Pflanzenschleim und Pectin, welche normaler Weise leicht verdaulich sind, andererseits Cellulose, die als solche zwar in gewissem Procentsatz im Darm des Menschen aufgeschlossen wird, aber gar nicht verdaut werden kann, wenn sie verholzt, verkorkt und cutinisirt ist.

Es ist nun selbstverständlich für die Beurtheilung der Verdauungsleistung ein fundamentaler Unterschied, ob eine gewisse Menge von Kohlehydraten als leicht lösliche Stärke oder die gleiche Gewichtsmenge in Form von harter Cellulose in den Fäces wiedergefunden wird. Hierüber können wir nur Auskunft erhalten durch directe Bestimmung der leicht aufschliessbaren Kohlehydrate und nicht durch Differenzrechnung.

Dass Bestimmungen derjenigen Kohlehydrate, welche der Verdauung entgangen sind, von Wichtigkeit sein können, ist in neuerer Zeit namentlich durch eine Reihe von A. d. Schmidt (2) inaugurrirter Arbeiten gezeigt worden. Es handelt sich zunächst um Aufschlüsse über die Leistungsfähigkeit des gesunden und kranken Darmes. Welche Ausblicke sich daran anschliessend überhaupt für die Physiologie und Pathologie der Verdauung ergeben werden, ist zur Zeit noch gar nicht abzusehen.

Bei Gelegenheit einer weiteren hierhergehörigen Arbeit trat nun an mich die Aufgabe heran, die Menge der verdaulichen Kohlehydrate im Stuhl möglichst genau zu bestimmen. Weiterhin musste es gelingen, sehr geringe Quantitäten von Stärke nachzuweisen, da die eingeführte Nahrung einer blanden Diätform entsprach, welche von Gesunden, wie bekannt, vorzüglich ausgenutzt wird.

Directe Bestimmungen der Stärke im Stuhl sind nun, wie gesagt, bisher selten unternommen worden; da es sich ausserdem um nebensächliche Punkte zu handeln pflegte, so sind, soweit ich überhaupt feststellen konnte, keine vergleichenden Untersuchungen über die Brauchbarkeit der angewendeten Methodik angestellt. Auch handelt es sich meist um den Nachweis verhältnissmässig grosser Stärkemengen.

Folgende Angaben konnte ich der vorliegenden Literatur entnehmen: Als Methode zur Zuckerbestimmung dient gewöhnlich das Allihn'sche Verfahren. Die Verzuckerung der im Koth enthaltenen

Stärke wurde durch Kochen mit verdünnten Säuren unter Schonung der Cellulose erzielt. Gustav Meyer (3) erwärmte zu diesem Zwecke mit verdünnter Schwefelsäure im offenen Gefäss oder zu geschmolzenem Rohr oder arbeitete nach Siegert's Methode. Constantinidi (4) bediente sich nach Sachsse der verdünnten Salzsäure und weiter der Allihn'schen Methode. C. Voit (5) liess bei Untersuchung über die Ernährung eines Vegetariers Stärkebestimmungen im Koth vornehmen, nennt aber die Methode nicht. Das Gleiche gilt für eine Arbeit von Zuntz und Magnus-Levy (6) einerseits, von Magnus-Levy (7) andererseits. M. Abelmann (8) invertirte nach Sachsse und nahm zur Zuckerbestimmung, da es sich um grosse Mengen handelte, die Fehling'sche Titration oder die Polarisation zu Hülfe. Rosenheim (9) bediente sich des Märcker'schen Verfahrens (Kochen von 3 g trockener Fäces mit 25 ccm 1%iger Milchsäure und 30 ccm Wasser 2½ Stunden lang bei 3½ Atmosphären Druck, dann mit 15 ccm Salzsäure 2½ Stunden im Wasserbad, beinahe Neutralisiren, Auffüllen auf 500 ccm und Zuckerbestimmung an 25—50 ccm nach Allihn).

Auch I. Munck (10) beschreibt diese Methode mit der Begründung, dass „eine Bestimmung der löslichen Kohlehydrate im Koth für gewöhnlich kaum geschieht“. S. Rosenberg (11) hielt sich ebenfalls an die Vorschriften von Märcker, bestimmte aber den Zucker nicht durch Wägung, sondern durch einfache Titration. Fr. Müller (12) in seinem bekannten Aufsätze über Icterus suchte mit Hülfe des Mikroskopes nach Stärkekörnern, kochte ausserdem mit 2%iger Schwefelsäure und erhielt dadurch Spuren reducirender Substanz. —

Fast keine dieser Arbeiten bringt Angaben über mehrfache, vergleichende Stärke-Analysen derselben Fäces, wie dies bei N-Bestimmungen gang und gäbe ist, so dass ich mit grösster Wahrscheinlichkeit annehmen darf, dass Doppelanalysen nicht ausgeführt wurden.

Nur G. Meyer bemerkt, dass er bei mehrfachen Untersuchungen Differenzen bis zur Höhe von 8% bekam, die in Wirklichkeit möglicher Weise noch viel höher sein könnten.

Weiterhin betonen Zuntz und Magnus-Levy, dass alle Nahrungsanalysen ihrer Arbeit mehrfach ausgeführt wurden; bei der Untersuchung der Fäces fehlt aber dieser Vermerk. Endlich erwähnt Magnus-Levy bei Untersuchung über die Ernährung eines Gymnasiasten a) mit Milch, b) mit Milch, Brot und Butter,

dass die Kothanalysen mehrfach ausgeführt wurden; er gibt aber nur Durchschnittszahlen. Ueber den quantitativen Nachweis der Stärke kann die Arbeit übrigens keine weitere Auskunft geben, da in einem Falle überhaupt keine Kohlehydrate, im anderen nur Spuren (0,5 % des trockenen Koths) gefunden wurden.

Ich war also mangels geeigneter Vorarbeiten genöthigt, Erfahrungen über die Möglichkeit einer genauen Stärke- resp. Zuckerbestimmung in der Fäces zu sammeln. Das Resultat dieser Untersuchungen sei als ein Beitrag zur Methodik im Folgenden niedergelegt. Meine Aufmerksamkeit musste sich hierbei drei Punkten zuwenden:

I. Die Methodik des genauen Zuckernachweises an sich betreffend.

II. Ueber die Anwendbarkeit dieser Methode auf Fäces.

III. Ueber die Fehlerquellen, die bei Verwandlung der Stärke in Zucker im Koth in Betracht kommen.

Durch mühevolle, ausgedehnte Untersuchungen hat Pflüger (13) gezeigt, dass alle bisherigen Wege der Zuckerbestimmung an erheblicher Ungenauigkeit litten und vier Methoden ausgearbeitet resp. verbessert, welche die quantitative Zuckeranalyse zu einem hohen Grade der Vollkommenheit gebracht haben. Besonders gilt dies für die Bestimmung sehr kleiner Mengen, wie sie für meine Bedürfnisse in Frage kommen. Es war also meine Aufgabe, eine dieser Pflügerschen Methoden in Anwendung zu bringen.

Die Arbeiten Pflüger's erstreckten sich nun ausschliesslich auf reine Zuckerlösungen, und nur für diese gelten die gewonnenen Resultate resp. der Grad der erreichbaren Genauigkeit.

In welcher Weise sich die Verhältnisse in einem complicirten Gemisch, wie es Fäcesextracte darstellen, gestalten würden, war eine weitere, meines Wissens bisher unberücksichtigte Frage. Um diese zu beantworten, galt es nicht nur, Doppelanalysen auszuführen, sondern auch zu controliren, ob Zusätze bekannter Mengen von Kohlehydraten quantitativ wieder gewonnen werden könnten. War es doch möglich, dass ausser dem Zucker sich andere reducirende Einflüsse geltend machen würden, die die ausgeschiedenen Oxydulmengen vergrössern, oder dass gewisse Substanzen Kupferoxydul in Lösung erhalten und so zu kleine Werthe zeitigen würden.

Auch die Frage, inwieweit der nach Inversion der Kohlehydrate gewonnene Zucker der ursprünglich vorhandenen Stärke entspricht, soll geprüft werden.

I. Die Zuckerbestimmung mit Hülfe der Volhard-Pflüger'schen Kupferrhodanürmethode.

Die von Pflüger in seinen „Untersuchungen über die quantitative Analyse des Traubenzuckers“ zur Auswahl gestellten Methoden sind:

1. die Kupferoxydmethode;
2. die Kupferrhodanürmethode;
3. die Kupferoxydulmethode;
4. die Kupfermethode.

Ueber die Auswahl unter diesen Methoden sagt Pflüger (14), die Kupferoxydulmethode führt am schnellsten zum Ziel, setzt aber voraus, dass neben dem Zucker nicht Substanzen in Lösung sind, welche sich entweder mit dem ausgeschiedenen Kupferoxydul chemisch verbinden, oder von ihm mit niedergerissen werden.

Das Gleiche gilt für die Allihn-Kupfermethode. Sollte sich eine solche Möglichkeit der Verunreinigung ergeben, so ist die Kupferoxyd- oder Kupferrhodanürmethode an ihrer Stelle. Erstere führt schneller zum Ziel, ist aber etwas schwieriger auszuführen. Aus diesen Ausführungen durfte ich entnehmen, dass sich die Kupferrhodanürmethode am besten zum Versuch eignet, da die Möglichkeit einer Verunreinigung eventuell auch anderweitigen Bindung des Kupferoxyduls in einer Fäceslösung von vornherein sicher nicht abzuweisen war. In einer durch Pflüger angeregten Untersuchung über die weitere Verwendbarkeit einer dieser vier Methoden, speciell ist hier an Zuckerbestimmung im Blut gedacht, hat Bickel (15) ebenfalls der Kupferrhodanürmethode den Vorzug gegeben.

Auf alle Einzelheiten, welche bei Ausführung der Untersuchung in Betracht kommen, einzugehen, kann hier nicht meine Aufgabe sein. Die erforderlichen Angaben finden sich in der Pflüger'schen Publication. Da diese letztere sehr umfangreich ist, und die auf die Kupferrhodanürmethode bezüglichen Angaben in derselben zerstreut sind, so weise ich zur Erleichterung des Studiums auf die Seiten 416—419, 423—430, 437, 439—442 und 468—471 hin. Eine Zu-

sammenstellung, deren man sich auch beim Arbeiten bedienen kann, und welche die wichtigsten Punkte berücksichtigt, findet man bei Bickel. Da aber über die Volhard'sche Methode in ihrem neuen Gewande ausser von Bickel noch keine weiteren Berichte vorliegen, so halte ich es für angebracht, den Hauptgang der Reaction zu recapituliren, unter Hervorhebung einiger Punkte, auf die ich beim Arbeiten besonders aufmerksam geworden bin.

Das Princip der Methode besteht darin, dass das in Lösung befindliche Kupfer bei Gegenwart von schwefliger Säure durch eine im Ueberschuss angewandte $\frac{1}{10}$ -Normallösung von Rhodanammium als Kupferrhodanür gefällt und im Filtrat hiervon der Ueberschuss des Rhodanammium mit $\frac{1}{10}$ -Silberlösung bestimmt werden kann.

Der Gang der Untersuchung ist nun folgender. Die zuckerhaltige, zu analysirende Lösung wird mit 60 ccm Fehling'scher Lösung und so viel Wasser, dass die gesammte Menge 145 ccm beträgt, in einem Becherglas genau $\frac{1}{2}$ Stunde im stark siedenden Wasserbad erhitzt. Nach Zusatz von 130 ccm kalten Wassers wird mit Hülfe der Saugpumpe durch ein Asbestfilter filtrirt und das auf dem Filter gesammelte Kupferoxydul mit Wasser ausgewaschen. Durch Salpetersäure wird das Kupferoxydul gelöst, durch Schwefelsäure in schwefelsaures Kupfer zurückverwandelt und durch Eindampfen die Salpetersäure vertrieben. Die überschüssige Schwefelsäure bindet man mit Soda. Man hüte sich vor einem grösseren Ueberschuss von Schwefelsäure. (Zu meinen Bestimmungen war meist $\frac{1}{2}$ —1 ccm concentrirter Schwefelsäure erforderlich.) Nach Zusatz von 50 ccm schwefliger Säure wird nun aufgeköcht und $\frac{1}{10}$ -Normal-Rhodanammiumlösung aus einer Bürette im Ueberschuss zugesetzt. Auch hier suche man den Ueberschuss so klein als möglich zu gestalten, weil dann bei der später folgenden Titration die Endreaction besser sichtbar wird. Nach dem Erkalten wird auf 300 ccm aufgefüllt und so lange filtrirt, bis das Filtrat ganz klar ist. War die Menge des ausgefällten Kupferrhodanür gering, so kann dies Filtriren längere Zeit in Anspruch nehmen. Zu 100 ccm des Filtrats werden 10 ccm concentrirter Eisenammoniakalaunlösung, 50 ccm Salpetersäure zugesetzt und mit $\frac{1}{10}$ -Normal-Silberlösung zurücktitrirt. Aus dem angewendeten Rhodanammium lässt sich das Kupfer berechnen. War die Silberlösung genau = $\frac{1}{10}$ normal, so ist jeder Cubikcentimeter Flüssigkeit mit 6,318 zu multipliciren; die erhaltene Zahl zeigt Milligramm Kupfer an. Aus der Pflüger'schen General-

tabelle S. 468 lassen sich die entsprechenden Werthe für Traubenzucker entnehmen.

Als Reagentien sind erforderlich:

- Fehling'sche Lösung nach Allihn's Vorschrift;
- $\frac{1}{10}$ -Normal-Silberlösung;
- $\frac{1}{10}$ -Normal-Rhodanammoniumlösung;
- Salpetersäure vom spec. Gew. 1,2, der einige Harnstoffkryställchen zugesetzt sind;
- concentrirte Schwefelsäure;
- concentrirte Sodalösung;
- kalt gesättigte wässerige Lösung von schwefliger Säure;
- kalt gesättigte wässerige Eisenammoniakalaunlösung.

Es ist für genaue Analysen durchaus erforderlich, sich die Fehling'sche Lösung sorgfältig nach den allerdings umständlichen Vorschriften frisch zuzubereiten. Zeitweise muss in Form eines blinden Versuches die Selbstreduction der Lösung controlirt werden.

Noch grössere Sorgfalt ist auf die Herstellung der $\frac{1}{10}$ -Normallösungen zu verwenden. Meine $\frac{1}{10}$ -Normal-Silberlösung stellte ich aus einem von Kahlbaum gereinigten Präparat dar. Das salpetersaure Silber wurde geschmolzen, im Exsiccator abgekühlt, gewogen, in einen Messkolben gespült und die berechnete Menge Wasser bei 15 ° C. theils in diesem auf Einguss geachteten Kolben, theils in einer Bürette abgemessen¹⁾. Von der Brauchbarkeit der Lösung überzeugte ich mich, indem ich in 50 ccm das Silber als Chlorsilber fällte und wog.

Die Rhodanammoniumlösung stellt man genau nach der Silberlösung ein. Auch die Kupfersulfatlösung controlirte ich durch Abdampfen, Trocknen bei 120—130 ° und Wägen.

An Messgefässen sind erforderlich vier kleine Büretten und je ein auf Einguss geachteter Kolben von 300 und 100 ccm. Für die Untersuchungen in den Fäces brauchte ich ausserdem je einen Kolben von 200 und 50 ccm. Die zur Aufnahme des Asbest verwandten Trichter sind grösser als die Allihn'schen (16). Sehr gut bewährte sich die Pflüger'sche Spritzflasche (17); ich stellte dieselbe aber nicht wie Pflüger auf den Tisch, sondern erhöht auf ein Gestell. Hierdurch wird die Anstrengung beim Blasen erheblich verringert.

1) Angewandtes $\text{AgNO}_3 = 17,8059$ g. In 1 Liter $\frac{1}{10}$ -Normal-Lösung sollen sein 16,9565 g AgNO_3 . Demnach beträgt das Volumen der Lösung 1050,05 ccm.

II. Anwendung der Methode auf menschliche Fäces.

Mein Vorgehen war folgendes. Die frischen Fäces werden zunächst auf etwaigen Schleimgehalt geprüft. Für normale Fäces kommt dies nicht in Betracht. Bei pathologischen Stühlen könnte aber ein Fehler dadurch bedingt werden, dass Mucin beim Kochen mit verdünnten Säuren einen reducirenden Körper abspaltet, demnach Zucker vortäuschen muss. Es ist in diesem Falle einige Stunden mit Kalkwasser zu extrahiren. Ist kein Schleim vorhanden, so wird nach Trocknen des Kothes möglichst fein pulverisirt, um die Cellulosehüllen zu eröffnen, dann bei 105° weiter getrocknet bis zur Gewichtskonstanz. Ca. 2 g trockene Fäces werden genau abgewogen, in einem 300 ccm fassenden Kolben nach Liebermann (18) mit 100 ccm 2 %iger Salzsäure versetzt und auf dem Sandbad 1 1/2 Stunden am Rückflusskühler gekocht, dann mit Natronlauge nahezu neutralisirt.

Durch ein Asbestfilter wird nun mit Hülfe einer starken Saugpumpe filtrirt, mit Wasser ausgewaschen und genau auf das Volumen von 200 ccm gebracht. Da die Flüssigkeit meist noch nicht ganz klar war, schloss ich Filtration durch ein trockenes Faltenfilter an. Von dem erhaltenen Filtrat dienen 50 ccm zur Zuckerbestimmung nach Volhard Pflüger.

Ich möchte nun zunächst durch einige Zahlen zeigen, inwieweit Doppel-Analysen dieses Filtrats auf Zucker übereinstimmende Werthe ergaben.

		mg Cu	mg Zucker
1. Stuhl Geh. in 50 ccm	a)	99,86	44,6
	b)	103,65	46,5
2. Stuhl Jac. in 50 ccm	a)	44,24	17,8
	b)	44,24	17,8
3. Stuhl Brand. in 50 ccm	a)	81,54	35,5
	b)	75,86	32,8
4. Stuhl Dern. a) in 50 ccm		51,82	21,1
	b) in 25 ccm	25,28	—
Demnach in 50 ccm		50,56	20,5

Diese vier Doppelbestimmungen zeigen zwar nicht alle die von Pflüger an reinen Zuckerlösungen erreichte Genauigkeit, lassen aber in ihren am besten übereinstimmenden Werthen erkennen, dass eine solche Genauigkeit sehr wohl möglich ist. Auch die weniger gut stimmenden Zahlen dürften immerhin noch als sehr brauchbar be-

zeichnet werden, um so mehr, wenn man berücksichtigt, dass die bestimmten Zuckermengen zumeist gering sind.

Ich legte mir nun zunächst die Frage vor, ob die gefundenen Werthe thatsächlich der Menge des vorhandenen Zuckers entsprechen, oder ob vielleicht ein Theil des bei der Reduction gebildeten Kupferoxyduls in Lösung gehalten und dadurch ein zu kleines Resultat gefunden wird. Diese Beeinflussung der Reaction konnte sich ja bei Doppel-Analysen ein und derselben Flüssigkeit stets in gleicher Weise geltend machen und dadurch den Fehler verdecken. Um hierüber Klarheit zu erlangen, wurde bei drei verschiedenen Kothern zunächst eine Bestimmung in dem Fäcesextract als solchen gemacht, dann eine Bestimmung nach Zusatz einer bekannten Zuckermenge¹⁾ und zugesehen, ob sich dieses Kohlehydrat quantitativ wieder gewinnen liess.

	mg Cu	mg Zucker
5. Stuhl Bl. a) in 50 ccm Fäcesextract	55,93	23
b) in 50 ccm Fäcesextract + 25 ccm einer Zuckerlösung	257,86	123
c) in 25 ccm derselben Zuckerlösung	202,24	95
b)—c).		123—95 = 28²⁾
6. Stuhl Ka. a) in 50 ccm Fäcesextract	31,28	11,3
b) in 50 ccm Fäcesextract + 42,8 mg Zucker	120,08	54,5
		54,5—42,8 = 11,7
7. Stuhl Waw. a) in 50 ccm Fäcesextract	42,98	16,8
b) in 50 ccm Fäcesextract + 44,2 mg Zucker	134,62	61,7
		61,7—44,2 = 17,5

1) Der Traubenzucker war aus Methyalkohol erhalten, absolut rein und wasserfrei.

2) Die zu 28 mg Zucker nach der Pflüger'schen Haupttabelle zugehörige Cu-Zahl ist 66,2, also nicht, wie man zuerst meinen könnte, die Differenz 257,86—202,24 = 55,62, sondern um 10,58 mg grösser. Das ist eine natürliche Folge des Umstandes, dass die Kupferzahlen der Tabelle aus zwei Summanden bestehen, einer Constanten, welche der Selbstreduction der Fehling'schen Lösung entspricht, und einer Variablen, die proportional mit den Zuckermengen ansteigt. Nimmt man, wie im vorliegenden Falle, die Differenz zweier Kupferzahlen, so fällt der Werth für die Selbstreduction heraus. Hierdurch erklärt sich das Deficit von 10,58 mg Cu, welches die Grösse der Selbstreduction darstellt.

Wir sehen in Versuch 6 und 7 sehr deutlich, dass der zugesetzte Zucker vollkommen wieder gewonnen wird; ja, ich fand sogar stets ein wenig mehr, in Nr. 6 0,4 mg, in Nr. 7 0,7 mg Zucker; im 5. Versuch beträgt dies s Plus nun sogar 5 mg.

Um dies abweichende Resultat zu erklären, könnte man nun annehmen, dass beim Versuche ein Fehler mit untergelaufen sei; es lässt sich aber auch eine andere Deutung finden. Pflüger (19) spricht sich nämlich bereits ausführlich darüber aus, dass bei Bestimmung sehr kleiner Zuckermengen die Resultate trotz grösster Sorgfalt in der Ausführung leicht zu klein ausfallen, weil die geringen Mengen des gebildeten Kupferoxyduls in Form eines sehr feinen Staubes abgeschieden werden und so leicht durch das Filter hindurch gehen können. Zur Verminderung dieses Uebelstandes empfiehlt Pflüger, bei Bestimmung sehr geringer Mengen ein bekanntes Quantum Zucker zuzusetzen, das natürlich nachträglich bei der Berechnung in Abzug kommen muss. Dieses ist aber gerade in meinen Versuchen 5—7 geschehen, so dass ich mich wohl in diesem Fall auf Pflüger berufen darf. Auffallend bleibt ja freilich, dass der Fehler bei einem ursprünglichen Zuckergehalt von 11,3 und 16,8 mg viel kleiner ausfiel als bei Gegenwart von 23 mg.

Dass diese Möglichkeit, einen Fehler zu begehen, bei noch geringeren Zuckermengen nachweislich in Betracht kommt, möge durch Anführung eines weiteren Versuches erhärtet werden.

	mg Cu	mg Zucker
8. Stuhl Toe. a) in 50 ccm Fäcesextract	9,48	0,0
b) in 50 ccm Fäcesextract + 62,2 mg		
Zucker	156,10	72,2
		72,2—62,2 = 10,0.

Es sind in diesem Falle nach Zuckerzusatz 10 mg Zucker mehr gefunden worden.

Fassen wir das Hauptergebniss der Versuche 5—8 zusammen, so haben diese den Beweis geliefert, dass der einem Fäcesextract zugesetzte Zucker mit Hülfe der Kupferrhodanürmethode ohne Verlust bestimmt werden kann. Es liegt nahe, aus diesem Factum den Schluss zu ziehen, dass überhaupt die in den Fäces mit genannter Methode bestimmten Kohlehydrate dem wahren Gehalt an diesen entsprechen, vorausgesetzt nur, dass es sich nicht um zu kleine Mengen handelt. Dieser Schluss ist aber noch nicht ganz sicher.

Es wäre nämlich doch denkbar, dass Einflüsse vorhanden sind, welche Kupferoxydul in Lösung erhalten, dass diese aber schon durch geringe Mengen erschöpft werden und für den weiterhin zugesetzten Zucker nicht in Betracht kommen. Ich hielt daher noch einen weiteren Versuch für erforderlich, bei dem ein Fäcesextract absolut zuckerfrei zu machen war. Zu diesem sollte dann eine bekannte Menge Zucker zugesetzt und mit der Kupferrhodanürmethode nachgewiesen werden. Um einen Fäcesextract mit Sicherheit von allen Kohlehydraten zu befreien, verfuhr ich in folgender Weise: 3,069 g der getrockneten, fein pulverisirten Fäces wurden, um die Stärke zur Quellung zu bringen, mit 100 ccm Wasser $\frac{1}{2}$ Stunde am Rückflusskühler gekocht, dann mit Pankreasdiastase versetzt und einen Tag im Brutschrank gelassen. Weiterhin nach Zusatz von Bierhefe zwei Tage bei 22° C. gären gelassen. Die Reaction war danach schwach sauer. Um alles Eiweiss zu entfernen, wurde nach Zusatz von etwas Essigsäure gekocht und sorgfältig filtrirt. Das Filtrat zeigte mit Kalilauge und Kupfersulfat keine Spur von Farbenreaction. Um festzustellen, dass aller Zucker entfernt war, wurden 24 ccm der Flüssigkeit im Vacuum bei 70° auf 4 ccm eingengt und mit diesen die Phenylhydrazinprobe ausgeführt, welche bei mikroskopischer Besichtigung sich als absolut negativ erwies. Eine Controle meiner Reagentien zur Phenylhydrazinprobe zeigte, dass die Probe mit 5 ccm einer 0,005 %igen Traubenzuckerlösung (also 0,25 mg Zucker) noch deutlich positiv ausfiel.

Das Fäcesextract war also sicher zuckerfrei.

	mg Cu	mg Zucker
9. Selbstreduction der Fehling'schen Lösung ¹⁾ . . .	13,90	—
50 ccm Fäcesextract	6,32	—
50 ccm Fäcesextract + 84,3 mg Zucker	168,74	78,4
33,1 mg Zucker in wässriger Lösung	75,84	32,8

1) Es ist auffallend, dass meine Fehling'sche Lösung bereits durch Selbstreduction 13,9 mg Kupfer auf dem Asbestfilter hinterliess, während Pflüger bei der gewöhnlichen Versuchsanordnung höchstens 5 mg Cu (20) nachweisen konnte und besondere Vorsichtsmaassregeln gebrauchen musste, um den ganzen Werth des abgeschiedenen Oxyduls zu erfahren, der in Wahrheit 17,55 mg betrug. Durch eine fehlerhafte Zusammensetzung meiner Fehling'schen Lösung glaube ich diese Differenz nicht erklären zu können, da die Lösung für diesen Versuch ganz frisch und genau mit den von Pflüger verlangten Cautelen zubereitet worden war. Für ihre Richtigkeit spricht auch die Thatsache, dass ein Controlversuch

Bei Besichtigung dieser Zahlen erkennt man, dass bei Untersuchung des zuckerfreien Fäcesextractes 7,58 mg Kupfer weniger auf dem Asbestfilter erscheinen als bei einem blinden Versuch mit derselben Fehling'schen Lösung. Desgleichen werden nach Zusatz von Zucker 5,9 mg Zucker = 11,86 mg Kupfer zu wenig gewonnen. Dass der Fehler nicht durch die Reagentien verursacht sein kann, geht daraus hervor, dass ein Controlversuch mit Zucker allein genau den erwarteten richtigen Werth gab. Der ganze Versuch wurde ausserdem mit der grössten Sorgfalt ausgeführt.

Es hat sich also in der That gezeigt, dass einige Milligramm Zucker der Bestimmung entgehen, deren Menge in diesem Falle 5,9 mg betrug. Ob das Gleiche für andere Fäces und in demselben oder verschiedenem Maasse gilt, habe ich nicht weiter untersucht, es dürfte sich aber stets um sehr kleine Werthe handeln.

Bei Anwendung der Kupferrhodanürmethode in Fäces kommen, wie aus dem Vorhergehenden ersichtlich, zwei Fehlerquellen in Betracht:

1. Es wird überhaupt etwas zu wenig Zucker, „etwa 6 mg“, gefunden.

2. Ist die Menge des zu bestimmenden Zuckers eine sehr geringe, so lassen sich correcte Resultate bloss erzielen, wenn man eine bekannte Menge Zucker zusetzt und nachträglich bei der Ausrechnung in Abzug bringt; sollte man dauernd sehr kleine Mengen zu bestimmen haben, so ist es empfehlenswerth, nach Pflüger (21) eine haltbare, d. h. mit 2,2 % Salzsäure versetzte Traubenzuckerlösung von bekanntem Gehalt vorrätig zu halten und aus einer Bürette abzumessen. Die dabei verwandte Säure ist natürlich entsprechend durch Alkalizusatz zu compensiren.

Sehen wir von diesen kleinen Fehlern ab, so hat sich die Kupferrhodanürmethode, was die Genauigkeit der Resultate betrifft, im menschlichen Fäces ausgezeichnet bewährt. Freilich sind die Bestimmungen

mit reinstem Zucker den der Pflüger'schen Tabelle entsprechenden Werth lieferte. Die Erklärung für die Abweichung sehe ich darin, dass ich ein Asbestfilter benützte, mit dem bereits eine Reihe Fäcesanalysen ausgeführt worden waren. Das Filter war durch feinen aus dem Koth niedergerissenen Schlamm dunkel gefärbt und ausserordentlich dicht, so dass es wohl im Stande war, feinstes staubförmiges CuO zurückzuhalten.

sehr umständlich und mühsam. Es fragt sich daher, ob nicht eine der anderen, immerhin auch schwierigen Pflüger'schen Methoden an ihre Stelle treten könnte. Bezüglich der Kupferoxydul- und Kupfermethode hat sich nun die Vermuthung, dass eine Verunreinigung des Niederschlages in den Fäces erfolgt, bestätigt. Namentlich wenn es sich um geringe Mengen von Zucker handelt, so sieht das ausgeschiedene Oxydul braun und flockig aus, durchaus verschieden von dem leuchtend rothen Pulver aus reinen Zuckerlösungen. Dementsprechend erscheinen die Asbestfilter schon nach wenigen Analysen schmutzig-braunschwarz.

Damit ist für feine Bestimmungen eine Analyse durch directe Wägung des Kupferoxyduls nicht anwendbar.

Auch die Allihn'sche Methode (Wägung des Kupfers) ist hier fehlerhaft. Als ich nämlich zwei Asbestfilter, jedes nach Anfertigung von ca. sechs Bestimmungen, im Wasserstoffstrom glühte, betrug die Gewichtsabnahme nur 0,9 resp. 1,3 mg, und der Asbest sah nach der Procedur noch annähernd ebenso schmutzig aus wie vor desselben.

		vor Red.	nach Red.
10.	Gewicht der Allihn-Röhre mit Asbest.	1. 11,1844	11,1831
	Gewicht der Allihn-Röhre mit Asbest.	2. 11,0049	11,0036.

Sehr beträchtlich war wohl die Verunreinigung nicht; wieviel dieselbe allerdings betrug, konnte ich auch nach starkem Glühen des Asbestes im Gebläse nicht erfahren; denn es betrug die weitere Gewichtsabnahme 1,7 resp. 3,6 mg, d. h. 0,7 resp. 4,3% vom Gewicht des ganzen Pfropfens, während reiner Asbest dabei 0,9% verlor. Auch nach diesem Glühen sah der Asbest noch lange nicht weiss aus.

		vor Oxydation	nach Oxydation
11.	Gewicht des Asbestpfropfens	1. 0,2312	0,2295
	Gewicht des Asbestpfropfens	2. 0,0829	0,0793
	Gewicht des reinen Asbest	0,4942	0,4896

Die Verunreinigung des Filters ist nun bei verschiedenen Kothn eine sehr wechselnde. Der Fehler ist also unbestimmbar, so dass für besonders genaue Untersuchungen der Kupferrhodanürmethode, welche diesen Fehler umgeht, zweifellos der Vorzug gebührt.

Noch ein Punkt, der für diese Methode spricht, sei erwähnt. Bei Fäces, die nur wenig Kohlehydrate enthalten, haftet der ver-

unreinigte Kupferoxydulniederschlag oft sehr fest am Becherglas und ist selbst durch einen mit Gummischlauch überzogenen Glasstab schwer loszubekommen, so dass ich manchmal 20 Minuten an der Wandung des Gefässes reiben musste. Für die Wägungsmethoden müsste man sich natürlich dieser Mühe unterziehen. Bei der Kupferrhodanürmethode genügt es aber, einfach das Kupfersulfat aus dem Becherglas auszuwaschen und dann den Wandbelag in Salpetersäure zu lösen, die man so wie so später auf das Filter bringen muss.

III. Fehler, die durch das Invertirungsverfahren bedingt sind.

Nachdem die Brauchbarkeit der Zuckerbestimmungen mit Hilfe der Kupferrhodanürmethode in Fäces erwiesen war, ging ich dazu über, festzustellen, inwieweit die Verzuckerung der Kohlehydrate zu Fehlern führt und die Gleichmässigkeit der Resultate beeinflusst.

Durch den Process der Invertirung mit verdünnten Säuren gelingt es keineswegs, alle vorhandene Stärke in Traubenzucker umzuwandeln; es geht nämlich neben der Inversion eine, wenn auch geringe Reversion einher, welche letztere dann einsetzt, wenn die Verzuckerung bis etwa zur Hälfte vorgeschritten ist; kleine Mengen Traubenzucker sollen ausserdem bei langem Kochen zersetzt werden. Es war nun einfach eine Sache des Ausprobirens, die Bedingungen aufzufinden, bei denen das günstigste Resultat erzielt wird. Nach den Untersuchungen von Allihn verfährt man, wie ich es auch bei Fäcesextracten that, am besten so, dass man mit 100 ccm 2%iger Salzsäure 1½ Stunden lang kocht. Es gelingt dann, etwa 95% der Stärke zu invertiren (22). Würde sämmtliche Stärke in Zucker verwandelt, so müssten, da dieser Process unter Aufnahme von Wasser in das Molekül vor sich geht, aus 90 Theilen Stärke 100 Theile Glykose werden, mit anderen Worten: die Menge des erhaltenen Zuckers wäre mit 0,9 zu multipliciren, um daraus das Ausgangsmaterial abzuleiten. Da aber, wie erwähnt, nicht alle Stärke invertirt wird, ergibt dieser theoretisch berechnete Factor, wie er u. A. von I. Munck (23) und Abelmann (24) benutzt wird, nicht den richtigen Werth. Es ist vielmehr, wie Soxhlet, Lintner und Düll (25) übereinstimmend feststellten, das Gewicht des Zuckers mit 0,94 zu multipliciren. Aus meiner Erörterung lässt sich aber ohne Weiteres ersehen, dass dieser empirisch gefundene

Factor kein ganz zuverlässiger sein kann, um so mehr, als verschiedene Stärkesorten sich dabei wechselnd verhalten dürften.

Stossen wir schon bei den quantitativen Verhältnissen der Stärke-Inversion auf Schwierigkeiten, so dürfte weiterhin ein wunder Punkt in der Frage zu suchen sein, ob beim Kochen mit verdünnten Säuren wirklich bloss Stärke umgewandelt und Cellulose gar nicht angegriffen wird. Letztere liefert beim Kochen mit concentrirten Säuren bekanntlich auch Glykose. Nach Liebermann (26) soll dies allerdings beim Kochen mit 2%iger Salzsäure nicht in Frage kommen, es liegt aber doch sehr nahe, Unterschiede in der Löslichkeit alter, incrustirter und reiner, junger Cellulose zu suchen; bei Lippmann (27) finde ich, dass es sich überhaupt bei echter Cellulose nur um schwere Angreifbarkeit, also nicht völlige Unlöslichkeit durch ein- bis zweiprocentige Säuren handelt. Weiterhin existiren auch durch verdünnte Säuren leicht angreifbare, sogenannte Hemicellulosen. Für die Bestimmung der Kohlehydrate in Fäces würde es allerdings nicht viel verschlagen, wenn derartige, leicht lösliche Cellulosearten mit als Stärke berechnet würden, da es, wie ich eingangs hervorhob, darauf ankommen dürfte, die Kohlehydrate zu bestimmen, welche für den Verdauungsapparat leicht angreifbar sind, und das darf doch für die lösliche Cellulosen ganz gewiss mit gelten. Es lässt sich übrigens diese Ungenauigkeit umgehen, wenn man mit Hülfe von Diastase die Stärke in Dextrin und Maltose verwandelt, die sich durch Wasser der Cellulose entziehen lassen. Durch Kochen mit verdünnter Säure kann man dann weiter Dextrin und Maltose in Traubenzucker überführen. Da aber die angewandte Diastase Zucker zu enthalten pflegt, wäre auch diese noch auf ihr Reductionsvermögen quantitativ zu prüfen, was das an sich mühsame Verfahren nicht vereinfacht. Ich gehe nunmehr zu meinen Versuchen über.

Während bisher eine bestimmte Menge Fäces auf einmal invertirt, und der vergleichende Versuch mit dem hierbei gewonnenen Filtrat ausgeführt worden war, nahm ich jetzt das Kochen des Kothes getrennt vor, um zu sehen, ob hierdurch die Gleichmässigkeit des Resultates Einbusse erlitt. Eine Erschwerung der Arbeit war hier noch dadurch gegeben, dass Fehler beim Abwiegen der Fäces, ferner beim Filtriren und Auswaschen des gekochten Kothes sich geltend machen konnten. Um letzteren Fehler nach Möglichkeit auszuschalten, wurde nicht durch schwer auswaschbare Papierfilter, sondern stets mit Hülfe der Saugpumpe durch Asbest filtrirt.

12. Stuhl Li.

	Fäces trocken	In 50 ccm = $\frac{1}{4}$ d. Extractes mg Cu	mg Zucker	Procent Zucker auf trockene Fäces berechn.
a)	1,912 g	54,96	22,6	4,88
b)	1,9922 g	58,78	24,3	4,73

Die Uebereinstimmung in diesem Versuche ist wieder eine sehr gute, da eine Differenz von 0,15 % Zucker in rund 2 g trockenen Fäces 3 mg Zucker entspricht; da weiterhin die Zuckerbestimmung wie bei allen früheren Versuchen in 50 ccm, d. h. dem vierten Theil des Fäcesextractes, vorgenommen wurde, so ist der bei der Zuckeranalyse begangene Fehler nur gleich dem vierten Theil von 3 mg, also 0,75 mg Zucker.

Nunmehr suchte ich zu ermitteln, ob zugesetzte Stärke in den Fäces entsprechend dem Soxhlet'schen Factor invertirt wurde. Ich verfuhr also wieder so, dass ich getrennt invertirte und einer Portion vor dem Kochen mit Säure eine abgewogene Menge reiner, bei 105° getrockneter Kartoffelstärke zusetzte.

13. Stuhl Toe.

	Fäces trocken	In 50 ccm = $\frac{1}{4}$ des Extractes mg Cu	mg Zucker	Procent Zucker in trockenen Fäces
a)	1,8026	84,69	37,1	8,23
b)	2,6658	153,38	70,9	8,24

+ 60,2 mg Stärke.

Die Uebereinstimmung ist hier eine vollkommene, da die Differenz nur 0,01 % = 0,2 mg oder bei der Zuckerbestimmung 0,05 mg Zucker ausmacht.

14. Stuhl The.

	Fäces trocken	In 50 ccm = $\frac{1}{4}$ des Extractes mg Cu	mg Zucker	Procent Zucker in trockenen Fäces
a)	2,1640	58,78	24,4	4,51
b)	2,9760	126,4	57,6	4,02

+ 104,1 mg Stärke.

Hier ist eine deutliche Differenz vorhanden, nämlich 0,49 % = 12 mg, bei der Zuckerbestimmung 3 mg Zucker.

Die letzten Zahlen zeigen, dass in der That leicht die gefundenen Zuckermengen etwas zu klein ausfallen. Uebrigens möchte ich in Anbetracht des sehr guten Resultates des vorigen, in derselben Weise angestellten Versuches auf Versuch 14 nicht allzu viel Werth legen.

Die Möglichkeit, dass man richtige Werte erhält, ist jedenfalls gegeben, weitere Experimente in dieser Richtung wären aber vielleicht angezeigt.

Als wichtigstes Resultat dieser Arbeit möchte ich hervorheben, dass mit Hülfe der hier beschriebenen Methodik Stärke in den Fäces auch in kleinen Mengen sehr gut quantitativ bestimmt werden kann. Speciell gibt die Volhard-Pflüger'sche Kupferrhodanürmethode zum Zuckernachweis, die bisher nur in reinen Lösungen erprobt war, bei menschlichen Fäces vorzügliche, übereinstimmende Resultate. Die Zuckerwerthe dürften aber im Koth stets etwas (ca. 6 mg) hinter der wahren Menge zurückbleiben. Auch beim Inversionsprocess kann leicht ein wenig Stärke dem Nachweis entgehen.

Aehnliche vergleichende Untersuchungen über die Möglichkeit der quantitativen Kohlehydrat-Bestimmung in menschlichen Fäces liegen bisher meines Wissens nicht vor.

Ueber Resultate, die ich mit dieser Methode bei normalen und pathologischen Fäces erhielt, wird demnächst im Deutschen Archiv für klinische Medicin berichtet werden.

Literatur.

- 1) Rubner, Zeitschrift für Biologie 1879 S. 143.
- 2) Ad. Schmidt, Deutsches Archiv für klinische Medicin Bd. 61 S. 280 ff.
- 3) Gustav Meyer, Zeitschrift für Biologie 1871 S. 7.
- 4) Constantinidi, Zeitschrift für Biologie 1887 S. 433.
- 5) C. Voit, Zeitschrift für Biologie 1889 S. 232.
- 6) Zuntz und Magnus-Levy, Pflüger's Archiv Bd. 49 S. 438.
- 7) Magnus-Levy, Pflüger's Archiv Bd. 53 S. 544.
- 8) M. Abelman, Inaug.-Dissert. Dorpat. 1890. S. 25.
- 9) Rosenheim, Pflüger's Archiv Bd. 46 S. 426.
- 10) I. Munck, Virchow's Archiv Bd. 132 S. 106.
- 11) S. Rosenberg, Pflüger's Archiv Bd. 70 S. 375.
- 12) Fr. Müller, Zeitschrift für klinische Medicin Bd. 12 S. 89.
- 13) Pflüger, Sein Archiv Bd. 69 S. 399 ff.
- 14) Pflüger, l. c. S. 470.
- 15) Bickel, Pflüger's Archiv Bd. 75 S. 248.
- 16) Pflüger, l. c. S. 471.

- 17) Pflüger, l. c. S. 419.
- 18) E. Salkowski, Practicum der physiolog. und patholog. Chemie 2. Aufl.
S. 283.
- 19) Pflüger, l. c. S. 454.
- 20) Pflüger, l. c. S. 462.
- 21) Pflüger, l. c. S. 417.
- 22) Lippmann, Die Chemie der Zuckerarten. 2. Aufl. (1895) S. 106.