

Das Vortäuschen von Eiweiss Spuren durch die Ferrocyankaliumprobe störende Substanzen, namentlich bei der Klärung trüber Körperflüssigkeiten.

Von

Dr. Bruno Bardach.

(Aus dem chemisch-bakteriologischen Laboratorium von Dr. M. T. Schnirer
und Dr. B. Bardach in Wien.)

Wegen ihrer Einfachheit und grossen Empfindlichkeit ist die Ferrocyankaliumprobe wohl eine der am häufigsten benutzten Eiweissproben. Das dem Ferrocyankalium eigene Vermögen, mit einer grösseren Zahl von Körpern zu reagieren, kann aber bei dem Nachweis von Eiweiss Spuren zu zweifelhaften Resultaten, eventuell zu Irrtümern führen. Auch bei der Trennung der Albumosen und Peptone von Eiweiss wird die Ferrocyankaliumreaktion verwendet. Hat man zunächst die Eiweisskörper nach Devoto¹⁾ mit konzentrierter Ammoniumsulfatlösung (80 g, nach Huppert 75 g, auf 100.cc Flüssigkeit) abgeschieden, so prüft man, um sich von der Vollständigkeit der Abscheidung zu überzeugen, das Filtrat mit diesem Reagens. Trotz äusserst vorsichtiger Arbeit ist nun die Ferrocyankaliumprobe fast stets, wenn auch nur sehr schwach positiv²⁾, so dass eigentlich fast immer Eiweiss Spuren nachweisbar sind, man zumindest aber fast nie die Gewissheit erlangt, dass die Flüssigkeiten auch wirklich ganz eiweissfrei sind. Das so häufige Auftreten dieser Eiweiss Spuren anzeigenden Trübung veranlasste mich, den ganzen Vorgang näher zu untersuchen. Hierbei fand ich, dass die verwendete Ammonsulfatlösung diese Eiweiss Spuren vortäuschende Trübung gab. Auch andere Ammonsulfatlösungen verhielten sich so und sogar Merck's garantiert reine Präparate gaben in konzentrierter wässriger Lösung (4:5), wie sie eben hier in Betracht kommt, eine allerdings nur sehr allmählich eintretende, schwächere, aber auf schwarzem Hintergrunde doch noch leicht sichtbare Opaleszenz. Analog verhielten sich auch andere Ammonsalze, und gaben Ammonium-Karbonat, -Nitrat und -Chlorid (am stärksten), je nach Konzentration und Reinheit, ganz leichte, erst nach 2—3 Minuten auftretende Opaleszenzen bis zu sofort eintretenden

1) Zeitschrift f. physiol. Chemie **15**, 465; diese Zeitschrift **30**, 649.

2) v. Jaksch's (Klinische Diagnostik 1901) diesbezügliche Angaben beschränken sich auf: „Eine leichte Trübung, die sofort bei Ausführung von Probe II (Ferrocyankaliumprobe) auftritt, ist nicht auf Eiweiss zu beziehen.“

Trübungen. Auch durch Verwendung von Merck's garantiert reinem Ferrocyankalium wurde an dem Verhalten nichts Wesentliches geändert.

Da die Reaktion auch ohne Ansäuern mit Essigsäure eintrat, die anderen Eiweissreaktionen ein negatives Resultat ergaben, konnte diese Trübung nicht von Eiweiss herrühren. Diese Salze entsprachen wohl den Reinheitsanforderungen nach Krauch¹⁾, immerhin haften ihnen aber diese Verunreinigungen an, welche auch das durch Destillation mit Natronlauge aus Ammoniumsulfatlösungen frei werdende Ammoniak noch aufwies, und welche auch bei der Sublimierung von Ammoniumchlorid in das Sublimat übergingen. Diese Verunreinigungen dürften von der Herstellung herrühren und wahrscheinlich flüchtigen Zersetzungsprodukten der in den Rohmaterialien enthaltenen organischen Substanzen zuzuschreiben sein. Bei der Schwierigkeit der Reinigung begegnet man wohl am einfachsten diesem störenden Einfluss, indem man nur garantiert reine Ammonsalze verwendet und es selbst dann nicht unterlässt bei Anstellung der Ferrocyankaliumreaktion die Intensität der eingetretenen Trübung mit jener, welche die verwendete Ammonsulfatlösung derselben Konzentration für sich gibt, zu vergleichen.

Auch in anderen Fällen kann sich eine Unsicherheit in der Beurteilung der Ferrocyankaliumprobe ergeben. Wird die Abscheidung des Albumins nach Panum²⁾ — Heynsius³⁾ mit Natriumchlorid oder Natriumsulfat und mäßigem Zusatz von Essigsäure vorgenommen, so tritt in den Filtraten, namentlich nach wiederholter Filtration, auf Reagenszusatz eine Verfärbung ein. Ein ähnliches Verhalten war mir besonders stark bei Klärungsversuchen mikrobentrüber Harne aufgefallen.

Von den vielen in Vorschlag gebrachten Klärmitteln erfüllen alle nur unvollkommen ihren Zweck und liefert die am meisten empfohlene Kieselgur wohl die klarsten Filtrate, doch zeigte es sich, dass manche Flüssigkeiten, besonders Harne, durch die Kieselgurfiltration die Eigenschaft erhielten, mit Ferrocyankalium eine Trübung und Verfärbung zu geben. Die Färbung hatte manchmal etwas Ähnlichkeit mit der, welche nitrithaltige Harne bei der Schaffer'schen Nitritreaktion⁴⁾ nach Karplus aufweisen und nahm bei stärker sauren Filtraten unter

1) Krauch, Die Prüfung der chemischen Reagenzien auf Reinheit.

2) Virchow's Archiv IV., 428.

3) Pflüger's Archiv X., 239.

4) Zentralbl. f. klin. Medizin 14, 577.

intensiverer Trübung einen grünen Ton an. Auch Kieselgure verschiedener Provenienz zeigten dieses Verhalten in mehr oder minder starkem Mafse. Die nähere Untersuchung ergab, dass der Eisengehalt der Kieselgure diese Erscheinung bewirkte, indem Eisenspuren von den filtrierten (namentlich an Säuren reichen) Flüssigkeiten in Lösung ¹⁾ gebracht wurden, welche dann mit Ferrocyankalium reagierten.

Zur Hintanhaltung dieses Übelstandes versuchte ich zunächst durch Glühen die Umwandlung in schwerer lösliches Oxyd herbeizuführen, und, als dies jedoch nicht zum Ziele führte, wurde dann eine Enteisung mit Salzsäure vorgenommen. Doch selbst nach wiederholter, mehrstündiger Behandlung mit heisser, verdünnter Salzsäure gelang eine vollständige Enteisung nicht, da das Eisen als Silikat vorhanden ist, so dass ich auch die Kieselgur als unbrauchbar fallen lassen musste und die Verwendbarkeit der Kieselgur ähnlichsten, jedoch durch die Darstellung reineren, käuflichen »auf nassem Wege bereiteten Kieselsäure« untersuchte.

Da sich zeigte, dass das Klärungsvermögen derselben bedeutend geringer, die wesentlichsten Nachteile (das vollständige Zurückhalten des Eiweisses in nur Eiweiss Spuren enthaltenden Flüssigkeiten einerseits, sowie das Vortäuschen von Eiweiss Spuren andererseits) jedoch fast dieselben wie bei Kieselgur sind, sah ich auch von der Verwendung dieses Filtermaterials ab und benützte ausschliesslich Filtrierpapier, welches eventuell in mehrfachen Schichten angeordnet wurde.

Jedoch auch hier ergaben sich die erwähnten Erscheinungen, wenn auch nur in viel geringerem Grade. Auszüge von mehrfach geschichteten Filtern mit schwacher Salz- oder Essigsäure reagierten deutlich mit Ferrocyankalium und Rhodankalium, und waren somit die benützten Filter eisenhaltig. Dieser Eisengehalt der gewöhnlichen Filter kann aber unter Umständen schon in einfacher Schicht die Reaktion beeinflussen. Auf diese Art erklärt sich das oben erwähnte Verhalten der stark sauren Filtrate der Eiweissabscheidung nach Panum. Die gleiche Ursache liegt auch der mit Ferrocyankalium auftretenden Trübung in

1) Von dem Eisenlösungsvermögen nativen sauren Harnes, sowie von der grossen Empfindlichkeit der Ferrocyankaliumprobe gegen diese Eisensalze, kann man sich leicht überzeugen, wenn man 10 cc klaren Harn selbst nur 1 Minute mit einem grösseren rostigen Nagel in einer Eprouvette in Berührung lässt. In der abgegossenen Flüssigkeit tritt auf Reagenszusatz die Reaktion meist schon in wenigen Sekunden ein.

den mit Trichloressigsäure enteiweissten Harnfiltraten bei dem Albumosennachweis nach v. Aldor¹⁾ zugrunde, und kommt diese von Eisen-salzen herrührende Störung überhaupt überall da in Betracht, wo die Lösungsbedingungen besonders günstige sind, also namentlich bei wiederholt filtrierten Flüssigkeiten, sowie bei solchen, welche in stärker saurem oder heissem saurem Zustand durch grössere Filterflächen filtriert werden.

Handelt es sich in solchen Fällen um den Nachweis von minimalen Spuren Eiweiss, dann dürfen nur eisenfreie²⁾ (eventuell sogenannte Analysen-) Filter verwendet werden.

Die Wasserstoffentwicklung beim Arsennachweis nach Marsh.

(Mitteilung aus dem Laboratorium für angewandte Chemie
der Königl. Universität München.)

Von

C. Mai und H. Hurt.

Die Entwicklung von Wasserstoff aus Zink und Schwefelsäure zum Zwecke des Arsennachweises nach Marsh stösst bekanntlich oft insofern auf Schwierigkeiten, als sie bei der erforderlichen Reinheit von Metall und Säure ausserordentlich träge verläuft; zu ihrer Beschleunigung pflegt man dann sogenannte Aktivierungsmittel zuzusetzen.

Da die Ansichten über Wert und Zulässigkeit der hierzu gebräuchlichen oder vorgeschlagenen Reagenzien geteilt sind, schien es uns gelegentlich einer Arbeit, bei der es sich um die Bestimmung sehr geringer Arsenmengen handelte, angebracht, hierüber einige Versuche anzustellen.

Ein brauchbares Aktivierungsmittel soll einerseits die Entwicklung eines mässig lebhaften, gleichmässigen Wasserstoffstromes veranlassen und darf andererseits kein Arsen im Entwicklungsgefäss zurückhalten und der Erkennung entziehen.

Zu den Versuchen wurde ein Marsh'scher Apparat benutzt, der aus einem im doppelt durchbohrten Kork einen kleinen Tropftrichter

¹⁾ Berliner klin. Wochenschrift 1899, S. 764.

²⁾ Diese kann man sich ja leicht durch wiederholte mehrstündige Behandlung mit verdünnter Salzsäure und Entfernung der letzteren mit Wasser herstellen.