

Bestimmung des Inulins im Harn und Blut mit Hilfe des Stufenphotometers.

Von

Ella B. Hatz und Ladislaus Szécsényi-Nagy.

(Aus der Medizinischen Klinik der Königl. Ungar. Franz Josef-Universität
Szeged, Ungarn.)

(Eingegangen am 27. Juni 1940.)

Mit 1 Abbildung im Text.



An Hand von *Clearence*-Untersuchungen mit Inulin zeigte sich das Bedürfnis nach einer Methode, die eine möglichst schnelle und genaue Bestimmung des Inulins im Harn und Blut ermöglicht.

Wie bekannt, ist das Inulin ein Polysaccharid, welches bei der Hydrolyse zu Fructose abgebaut wird. Zur quantitativen Bestimmung wird im allgemeinen dieses Verhalten des Inulins herangezogen, indem die nach dem hydrolytischen Abbau erhaltene Menge der Fructose irgendwie (z. B. durch Messung des Reduktionsvermögens) ermittelt wird. — Unsere Methode fußt auf der *Seliwanoffschen* Probe, die bekannterweise darin besteht, daß eine salzsaure Lösung der Fructose mit Resorcin gekocht eine rote Färbung, bzw. bei größerer Konzentration einen in Alkohol löslichen roten Niederschlag liefert. — Unseren Erwartungen gemäß änderte sich die Intensität des Farbtones gleichsinnig mit der Konzentration der Fructose, so daß sich aus der mit Hilfe des Stufenphotometers ermittelten Intensität der Rotfärbung die Menge der Fructose bzw. des Inulins berechnen läßt.

G. Düll konnte zwar feststellen, daß bei dem mittels Mineralsäuren durchgeführten hydrolytischen Abbau des Inulins die Fructose nicht in ihrer ganzen Menge unverändert bleibt, sondern aus ihr verschiedene Umsetzungsprodukte entstehen, doch gefährdet dieser Umstand die Richtigkeit unseres Bestimmungsprinzips keinesfalls. Man muß sich nämlich vor Augen halten, daß die entstandene Fructose sofort mit dem anwesenden Resorcin reagiert und somit andere Reaktionen ausgeschlossen werden.

Unsere Versuche zeigten jedoch, daß der Verlauf der Farbreaktion von der Menge des angewandten Resorcins nicht unabhängig ist; man muß also die unten angegebene Konzentration strengstens einhalten, da bei der Ermittlung der Kurve — mit deren Hilfe die Berechnung der Inulinmenge erfolgt — diese Resorcinkonzentration gewählt bzw. für am günstigsten gefunden wurde.

Zur Entfernung der Eiweiße bzw. anderer reduzierender, nicht zuckerartiger Substanzen wurde die Fällung nach *Fujita* mit Cadmium-

hydroxyd herangezogen, die auch bei der Fructosebestimmung von *R. W. Martin* angewendet wurde. Es zeigte sich jedoch, daß — besonders aus dem Harn — all diejenigen Substanzen, die bei der Resorcinprobe eine Färbung ergaben, mit Cadmiumhydroxyd nicht vollständig ausgefällt werden konnten. Wir gingen deshalb so vor, daß wir mit dem vor der Inulinbelastung (Zufuhr intravenös) entnommenen Blut bzw. entleerten Harn die Reaktion durchführten und dann bei der eigentlichen Bestimmung die so gewonnene Lösung als Kompensationsflüssigkeit anwendeten.

Erforderliche Reagenzien.

1. 13,0 g CdSO_4 werden in 63,5 ccm n/1 Schwefelsäure gelöst und die Lösung mit dest. Wasser bis auf 1000 ccm ergänzt.
2. n/1 NaOH-Lösung.
3. 25 %ige Salzsäure, die auf 100 ccm 0,75 g Resorcin pro anal. enthält.
4. 96 %iger Alkohol.

Vor allem wurde die der Berechnung zugrunde gelegte Kurve ermittelt, und zwar so, daß auf die Abszisse die Extinktionswerte, auf die Ordinate die Inulinmengen in mg-Werten aufgetragen wurden. Die zu den einzelnen Konzentrationen gehörenden Punkte der Kurve wurden so bestimmt, daß die durch Resorcinsalzsäure erzeugte Rotfärbung im Stufenphotometer öfter nacheinander gemessen und der Mittelwert dieser Messungen eingezeichnet wurde. Auf diese Weise wurde die Intensität der Farbreaktion von 0,25, 0,50,

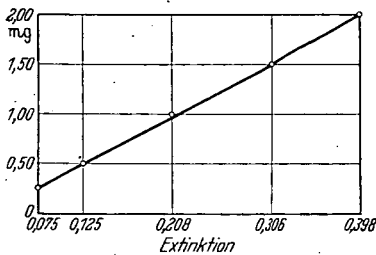


Abb. 1.

1,0, 1,5 und 2,0 mg Inulin-(in 15 ccm) bestimmt. Jede einzelne Messung wiederholten wir sieben- bis achtmal, und zwar wie folgt: In je ein Reagensröhrchen mit eingeschliffenem Glasstöpsel, das genau bei 10 und 15 ccm markiert war, wurden der Reihe nach 0,25, 0,50, 1,0, 1,5 und 2,0 ccm einer 0,1 %igen Inulinlösung eingeführt und nachher jeder Ansatz zuerst mit 4 ccm Resorcinsalzsäurelösung, danach bis zur 10-ccm-Marke mit dest. Wasser versetzt und durchgeschüttelt. Nun tauchte man das Röhrchen auf genau 10 Minuten in ein lebhaft siedendes Wasserbad, kühlte nach der Hydrolyse ab, füllte bis zur 15-ccm-Marke mit Alkohol auf, schüttelte durch und nahm sofort die Messung im Stufenphotometer vor. Zur Messung wurden 5-mm-Küvetten und das Farfilter S 43 angewendet; als Kompensationsflüssigkeit diente dest. Wasser. Die so ermittelte Kurve ist aus obestehender Abbildung ersichtlich.

Bestimmung im Serum und Harn.

1 ccm Serum bzw. Harn wurde mit 2 ccm dest. Wasser, 8 ccm Cadmiumsulfatlösung und 1 ccm n/1 NaOH-Lösung versetzt. Man schüttelte durch, ließ einige Minuten stehen und filtrierte durch ein trockenes Filter. Aus dem Filtrat wurden 6 ccm in eines der oben beschriebenen Röhrchen pipettiert, der Ansatz mit 4 ccm Resorcinsalzsäurelösung versetzt und gründlich durchgeschüttelt. Nun tauchte man das Röhrchen genau 10 Minuten lang in ein lebhaft siedendes Wasserbad, kühlte hernach ab und füllte mit Alkohol bis zur 15-ccm-Marke auf. Die Farbintensität der so gewonnenen gelblichroten Lösung wurde unter Anwendung einer 5-mm-Küvette und des Farbfilters S 43 im Stufenphotometer gemessen. Als Kompensationsflüssigkeit diente eine Lösung, die nach gleicher Aufarbeitung einer vor der Inulinbelastung entnommenen Blutprobe bzw. entleerten Harnprobe gewonnen wurde. Die den erhaltenen Extinktionswerten entsprechenden Inulinmengen können in mg-Werten mit Hilfe obiger Kurve graphisch ermittelt werden. Multipliziert man diesen Wert mit 100, so erhält man den Inulingehalt des Serums bzw. Harns in mg-%.

Die Zuverlässigkeit unserer Methode haben wir nachgewiesen, indem wir dem Serum bzw. Harn bekannte Mengen Inulin zusetzten und nach Entfernung des Eiweißes die Bestimmung des Inulins nach der früher angegebenen Weise durchführten. Gleichzeitig wurde die Resorcinsalzsäurereaktion auch beim mit Inulin nicht versetzten Serum bzw. Harn durchgeführt und die so gewonnene Lösung als Kompensationsflüssigkeit angewendet. Unsere diesbezüglichen Versuchsergebnisse sind in der untenstehenden Tabelle zusammengefaßt:

Serum Inulin in mg		Harn Inulin in mg	
zugesetzt	gefunden	zugesetzt	gefunden
0,25	0,27	0,25	0,23
0,50	0,52	0,50	0,50
0,75	0,76	0,75	0,78
1,00	1,00	1,00	0,97

Literatur.

G. Düll, Chem. Ztg. 19, 166, 1895; Fujita und Iwatake, diese Zeitschr. 242, 43, 1931; R. W. Martin, Klin. Wochenschr. 20, 723, 1939.