

Ruppersberg, Klaus

Nachweisreaktionen für Lactose und Maltose von 1848 bis heute. Neue Quellen aus Russland und Frankreich entdeckt

Flensburg : Europa-Universität 2024, 33 S.



Quellenangabe/ Reference:

Ruppersberg, Klaus: Nachweisreaktionen für Lactose und Maltose von 1848 bis heute. Neue Quellen aus Russland und Frankreich entdeckt. Flensburg : Europa-Universität 2024, 33 S. - URN: urn:nbn:de:0111-pedocs-301325 - DOI: 10.25656/01:30132

<https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:0111-pedocs-301325>

<https://doi.org/10.25656/01:30132>

Nutzungsbedingungen

Gewährt wird ein nicht exklusives, nicht übertragbares, persönliches und beschränktes Recht auf Nutzung dieses Dokuments. Dieses Dokument ist ausschließlich für den persönlichen, nicht-kommerziellen Gebrauch bestimmt. Die Nutzung stellt keine Übertragung des Eigentumsrechts an diesem Dokument dar und gilt vorbehaltlich der folgenden Einschränkungen: Auf sämtlichen Kopien dieses Dokuments müssen alle Urheberrechtshinweise und sonstigen Hinweise auf gesetzlichen Schutz beibehalten werden. Sie dürfen dieses Dokument nicht in irgendeiner Weise abändern, noch dürfen Sie dieses Dokument für öffentliche oder kommerzielle Zwecke vervielfältigen, öffentlich ausstellen, aufführen, vertreiben oder anderweitig nutzen.

Mit der Verwendung dieses Dokuments erkennen Sie die Nutzungsbedingungen an.

Terms of use

We grant a non-exclusive, non-transferable, individual and limited right to using this document.

This document is solely intended for your personal, non-commercial use. Use of this document does not include any transfer of property rights and it is conditional to the following limitations: All of the copies of this documents must retain all copyright information and other information regarding legal protection. You are not allowed to alter this document in any way, to copy it for public or commercial purposes, to exhibit the document in public, to perform, distribute or otherwise use the document in public.

By using this particular document, you accept the above-stated conditions of use.

Kontakt / Contact:

peDOCS
DIPF | Leibniz-Institut für Bildungsforschung und Bildungsinformation
Informationszentrum (IZ) Bildung
E-Mail: pedocs@dipf.de
Internet: www.pedocs.de

Mitglied der


Leibniz-Gemeinschaft

Nachweisreaktionen für Lactose und Maltose von 1848 bis heute:

Neue Quellen aus Russland und Frankreich entdeckt

Klaus Ruppertsberg

Zusammenfassung:

Lactose und Maltose wurden 1615 bzw. 1847 entdeckt und sind zwei besondere Kohlenhydrate, die stark im Alltag vertreten sind: Lactose als Bestandteil von Milch und Milchprodukten, Maltose in Bier, Malz und Knabbergeback. Sobald ein Stoff entdeckt ist, soll er auch mit einer geeigneten Labormethode nachgewiesen werden können. Obwohl es erste Versuche von Hermann Christian von Fehling (1848), Giovanni Campani (1872) und Max Rubner (1884) gab, fingen die Lactose- und Maltosenachweise erst mit Alfred Wöhlk (1904) und Hans Malfatti (1905) an, urologische und lebensmittelchemische Laborgeschichte zu schreiben. Ab 1942 kam „Fearon’s Test“, vor allem im englischen Sprachgebiet hinzu. Bei Recherchen zur Verwendung im Schulunterricht traten interessante und neue Aspekte hervor, unter anderem die Substitution von Ammoniak durch 1,6-Diaminohexan. Aber auch weitere Forscher wurden entdeckt, die am selben Thema arbeiteten, u.a. Friedrich Karl von Krüger (1907) in Tomsk (Russland) und Renée Rochat (1934) aus Lyon (Frankreich).

Stichworte: Lactose, Maltose, Nachweisreaktion, Chemiegeschichte, Diaminohexan

Titel englisch:

Detection reactions for lactose and maltose from 1848 until today
New sources discovered from Russia and France

Abstract:

Lactose and maltose were discovered in 1615 and 1847 respectively and are two special carbohydrates that are strongly represented in everyday life: lactose as a component of milk and dairy products, maltose in beer, malt and "snacks". As soon as a substance is discovered, it should also be possible to detect it using a suitable laboratory method. Although there were first attempts by Hermann Christian von Fehling (1848), Giovanni Campani (1872) and Max Rubner (1884), the lactose and maltose detection began to write history of the urological and food chemistry laboratory with Alfred Wöhlk (1904) and Hans Malfatti (1905). From 1942 "Fearon's test" was added, especially in the English-speaking area. When researching its use in school lessons, interesting and new aspects emerged, including the substitution of ammonia by hexamethylenediamine. But also other researchers were

discovered who were working on the same topic, including Friedrich Karl von Krüger (1907) in Tomsk (Russia) and Renée Rochat (1934) from Lyon (France).

Keywords: Lactose, maltose, detection reaction, chemistry history, hexamethylenediamine

Erscheinungsjahr: 2024

1. Einleitung

Auf der Suche nach einem geeigneten Nachweistest für Milchzucker (Lactose) überprüfte zu Beginn des 20. Jahrhunderts der dänische Chemiker und Pharmazeut Alfred Wöhlk in der Pharmazeutischen Lehranstalt Kopenhagen unter anderem auch die Reaktion von Zuckern mit Alkalien und Ammoniak [1]. Dabei entdeckte er zufällig die um ca. 30 Minuten verzögerte Entstehung eines lachsroten Farbstoffs, der sich unter den damals laborüblichen Zuckern als spezifisch für Lactose und Maltose erwies. Später kamen noch Cellobiose, Lactulose und Maltulose hinzu – alles 1,4-verknüpfte reduzierende Disaccharide (Abb. 1).



Abb. 1: Wöhlk-Probe im Wasserbad (65 °C) mit Lactose, Lactulose, Maltose, Maltulose, Cellobiose (alle rot), Glucose, Galactose, Fructose (alle gelb), Saccharose (vorne, farblos)

Bis 2016 wurden die Identität des Farbstoffs und damit auch der Mechanismus seiner Bildung entweder nicht oder falsch beschrieben („Pyrrolrot“, „rotes Ammoniummucat“) [2]. Bei dem Versuch, mehr Licht in Struktur und Entstehung der roten Farbstoffe zu bringen, traten auch neue historische

Informationen zu Tage, die zusammengefasst eine Geschichte der Lactose- und Maltosenachweise sind.

2. Erste Versuche zum Nachweis von Lactose

Lactose wurde um 1615 von Fabricio Bartoletti (auch Bertoletti und andere Schreibweisen) entdeckt [3], Maltose im Jahre 1847 von Dubrunfaut [4].

In dieser frühen Zeit wurden Zucker anhand ihrer Kristalle (Mikroskop, Vergrößerungsglas) und ihres spezifischen Drehungswinkels im Polarimeter charakterisiert [5]; spezifische Nachweisreaktionen waren noch unbekannt. Im Jahre 1848 beschrieb Hermann Christian von Fehling eine Nachweisreaktion für Glucose [6], die allerdings in gleicher Weise bei allen reduzierenden Zuckern reagierte: Glucose, Lactose, Maltose, ja sogar der Ketozucker Fructose, ergaben allesamt dieselbe positive Farbreaktion. So ist es kein Wunder, dass nach weiteren Nachweisreaktionen für Kohlenhydrate gesucht wurde, die exaktere Unterscheidungen ermöglichen sollten.

Nach Fehling (1848) berichteten Giovanni Campani [7] und Max Rubner [8] über „Nachweisungen von Trauben- und Milchzucker“, jedoch erzeugen auch diese Verfahren sowohl mit Glucose als auch mit Lactose die gleiche Farbreaktion, nämlich einen roten Niederschlag. Diese Verfahren, teilweise mit unglaublichen 8 g Bleiacetat in 10 mL Kohlenhydratlösung, waren auch schon Alfred Wöhlk bekannt und wurden von ihm geprüft [1]. Wöhlks Augenmerk lag jedoch auf der Suche nach einem geeigneten Verfahren zur Abgrenzung von Glucose gegen Lactose, wodurch sich die beiden Kohlenhydrate klar unterscheiden lassen sollten. Die Versuche von Campani und Rubner waren für Wöhlk daher nicht zielführend.

Alfred Wöhlk in der Pharmazeutischen Lehranstalt Kopenhagen war aber nicht der einzige, der nach einem nasschemischen Labornachweis für Milchzucker suchte: Dass man in Sankt Petersburg schon einige Jahre zuvor Muttermilch mit Ammoniak überprüft hatte [9,10], war ihm offensichtlich unbekannt. Immerhin hatte Wöhlk von Frederik Hendrik van Leent gelesen, einem Mitarbeiter von Lobry de Bruyn und Alberda van Ekenstein [11]. Van Leent arbeitete in Amsterdam und promovierte in Basel über „Einige Untersuchungen über den Milchzucker“, s.u. [12].

3. Frederik Hendrik van Leent (1894)

Der in Den Haag, Niederlande, geborene Frederik Hendrik van Leent (1866-1935) [13] arbeitete in Amsterdam mit zwei Chemikern zusammen, die vor allem durch die Keto-Enol-Tautomerie von Zuckern im Alkalischen und die längste Namensreaktion der organischen Chemie bekannt wurden, nämlich Cornelis Adriaan Lobry van Troostenburg de Bruyn und Willem Alberda van Ekenstein [11]. Seine Dissertation publizierte Frederik Hendrik van Leent im Jahre 1894 an der Universität Basel unter dem Titel „Einige Untersuchungen über Milchzucker, Galactose und Maltose und ihre

Ammoniakverbindungen“. Darin untersuchte er die Mutarotation beim Auflösen der Zucker in Wasser mit einem Polarimeter und berichtet auf S. 20 über den Milchzucker [12]: „In konzentriertem wässrigen Ammoniak geht die spezifische Drehung in fünf Tagen von $48,3^\circ$ zu 30° hinab. Die Lösung aber färbt sich rot und allmählich braun.“ Van Leent geht im weiteren Text nicht mehr auf die Rotfärbung ein, und bezüglich der „Braunfärbung“ (i.e. nicht-enzymatische Bräunung bzw. Melanoidbildung) bleibt zu sagen, dass Louis Camille Maillard seine Untersuchungen mit Zuckern und Aminosäuren [14] erst 18 Jahre *nach* van Leent veröffentlichte.

4. Nersess Sacharewitsch Umikoff (1896)

Nersess Sacharewitsch Umikoff (Abb. 2) wurde am 7. Oktober 1865 in Tiflis (Georgien) geboren, absolvierte im November 1891 seinen Abschluss als Arzt an der Kaiserlichen Akademie in Charkow und wurde am 1. März 1895 Internist am Kaiserlichen Findelhaus in St. Petersburg [15].



Foto: Gemeinfrei

Abb. 2: Nersess Sacharewitsch Umikoff, 1865-1956

Da es noch keine künstliche Babynahrung im heutigen Sinne gab, waren ausgesetzte Säuglinge damals auf die Milch von Ammen angewiesen, die ihre Muttermilch (im damaligen Sprachgebrauch „Frauenmilch“ genannt) gegen Entlohnung beim Kaiserlichen Findelhaus abgaben. Die Mortalität unter den jährlich bis zu 10.000 eingelieferten Säuglingen war hoch; man nimmt an, dass die meisten unter ihnen an Verdauungskrankheiten verstarben [16]. Bereits 1896 hatte Prof. Nersess Umikoff eine Methode gefunden, mit der er den Lactosegehalt der Muttermilch abschätzen konnte. Dadurch ließ sich herausfinden, wie viele Wochen seit Beginn der Laktation vergangen waren: „Frauenmilch nimmt

eine je nach dem Alter um so intensivere violettrothliche (sic!) Färbung an, während Kuhmilch gelb bis gelbbraun wird..." [9].

IX.

Zur differentiellen chemischen Reaction der Frauen- und Kuhmilch und über die Bestimmung der Lactationsdauer der Frauenbrust.

Aus dem chemischen Laboratorium des kaiserl. Findelhauses zu St. Petersburg.

Von

Dr. NERSESS UMIKOFF.

(Der Redaction zugegangen den 4. April 1896.)

Beim Arbeiten über die Eiweisskörper der Kuh- und Frauenmilch war es mir für einige Zwecke nothwendig, die Einwirkung des Ammoniaks auf die Milchkügelchen unter dem Mikroskop kennen zu lernen. Ich bemerkte beim Einwirken verschiedener Mengen Ammoniaks auf Kuh- und Frauenmilch, und zwar beim Stehenlassen der Mischungen der Milch mit Ammoniak auf kürzere oder längere Dauer, dass die Frauenmilch dabei stets eine roth-violette Farbe annahm, während die Kuhmilch unter denselben Bedingungen nie solch eine Verfärbung zeigte.

Bei allen meinen Versuchen gebrauchte ich 5 ccm der zu untersuchenden Milch, fügte 2,5 ccm einer 10%igen Ammoniaklösung hinzu und erwärmte die Mischung auf dem Wasserbade bis 60° C. 15—20 Minuten lang. Das Erwärmen geschah, um das Erscheinen der Reaction zu beschleunigen, aber die erwähnte Verfärbung erscheint auch bei gewöhnlicher Temperatur.

Die Technik ist, wie oben beschrieben, ausserordentlich einfach und überall leicht ausführbar. Es ist nicht unbedingt nothwendig, eine 10%ige Ammoniaklösung zu gebrauchen, aber die Vergleichsversuche müssen natürlich mit einer Lösung von ein und demselben Procentgehalt ausgeführt werden.

Abb. 3: Faksimile eines Textausschnittes von Nersess Umikoff

Dass Kuhmilch eine solche Verfärbung nicht zeigte, ist leider eine falsche Beobachtung, denn die Färbung beruht, wie sich später zeigte, auf der Anwesenheit von Lactose. Lactose ist ein Zucker, der nur in der Milch von Säugetieren auftritt; beim Rind sind es 4,7 g auf 100 mL Milch, und beim Menschen sind es 7,2 g auf 100 mL Milch [17]. Eventuell waren der unterschiedliche Lactose-Gehalt und ein unterschiedlicher pH-Wert Gründe, die zu Umikoffs Fehlschluss führten. Schon ein Jahr später berichtigte der in Florenz arbeitende Wissenschaftler G. Marchetti mit einer halbseitigen Notiz in Maly's Jahresbericht von 1897: „Die (Umikoff'sche) Reaction findet sich nicht ausschließlich bei der

Frauenmilch, auch Kuhmilch giebt (sic!) dieselbe bei zwanzig Minuten langer Erwärmung auf 70 °C. Weitere Untersuchungen ergaben, dass die Reaktion auf der Gegenwart von Milchzucker beruht“ [18]. Auch in Wien wurde die Umikoff'sche Reaktion noch einmal näher untersucht [19]. Dabei wurde herausgefunden, dass die Kuhmilch manchmal keine Rotfärbung ergibt, weil sie mitunter einen so geringen pH-Wert aufweist, dass Ammoniaklösung alleine nicht ausreicht, um die notwendige Alkalität zu erzeugen: „Wird Kuhmilch vor dem Erhitzen ... auf einen pH von 12 gebracht oder Ammoniak in großem Überschuß zugesetzt, so ergibt auch die Kuhmilch eine positive Umikoff-Reaktion“ [19]. Dies ist ein sehr früher Hinweis auf die starke pH-Abhängigkeit der Reaktion. Weiterhin muss aus heutiger Sicht ergänzt werden, dass Muttermilch außer Lactose noch viele weitere Kohlenhydrate (HMOs, Human Milk Oligosaccharides [20]) enthält, die zum Teil ebenfalls eine 1,4-Verknüpfung aufweisen und ebenfalls farbbildende Reaktionen eingehen können. Aus diesem Grund ist die farbliche Erscheinung bei der „Umikoff'schen Reaktion“ (im Prinzip identisch mit der Wöhlk-Probe) mit Muttermilch in den dunkelroten Bereich („brombeerrot“) verschoben, während Kuhmilch eine lachsrote Farbe ergibt.

5. N. Sieber alias Nadeshda Olimpijewna-Ziber-Shumowa (1900)

Vier Jahre später publizierte „N. Sieber“ am Sankt Petersburger Nencki-Institut ihre systematischen Untersuchungen der Umikoff'schen Reaktion (siehe Abb. 4) [10].

Ueber die Umikoff'sche Reaction in der Frauenmilch.

Von
N. Sieber.

(Aus dem Laboratorium von M. Nencki in St. Petersburg.)

(Der Redaction zugegangen am 10. Juni 1900.)

In den Veröffentlichungen der Aerzte des Petersburger Findelhauses, Jahrgang 1898, hat Dr. N. Z. Umikoff¹⁾ eine Reaction beschrieben, mittelst welcher man im Stande ist, das Alter der Frauenmilch, von Beginn der Lactation ab gerechnet, zu bestimmen. Die Reaction besteht darin, dass eine bestimmte Menge, etwa 5 ccm. der zu untersuchenden Milch, mit dem halben Volumen, also 2,5 ccm. 10 %igen wässerigen Ammoniaks versetzt und 15 bis 20 Minuten lang im Wasserbade auf 60° erwärmt wird. Die Milch nimmt dabei eine violett-röthliche Färbung an, und die Nüance ist um so intensiver, je älter die Milch, seit Beginn der Lactation, ist. Kuhmilch, verschiedenen Alters, in gleicher Weise behandelt, nimmt eine gelbe, höchstens gelblichbraune Färbung an, so dass durch diese einfache Reaction sofort die Frauenmilch von der Kuhmilch unterschieden werden kann. Es war nun von Interesse, zu erfahren, durch welchen specifischen Bestandtheil der Frauenmilch diese charakteristische Reaction bedingt ist und ob, ausser der Kuhmilch, die Milch anderer Thierspecies diese Reaction nicht gibt.

Dank der Liebenswürdigkeit des dirigirenden Arztes des Petersburger Findelhauses, Dr. M. D. van Puteren, der mich auf diese Reaction aufmerksam machte und mir Frauenmilch

1) Trudy Wratschej St. Petersburgskaogo wospitatelnaogo doma 1898.

Abb. 4: Faksimile eines Textausschnittes von N. Sieber

Der historische Text (s. o.) enthält im Original keinen vollständigen Namen, sondern ist nur mit N. Sieber gekennzeichnet. Durch das Auffinden einer Doktorarbeit aus Bern wurde offenbar, dass es sich um eine Frau handelte [21]. Je nach Schreibweise hieß sie manchmal „Nadine“ oder „Nadina“, auch der Druckfehler „Nadira“ lässt sich auffinden. In diesem Zusammenhang lässt sich diskutieren, ob Nadine Sieber ihren Artikel aus dem Jahre 1900 vielleicht absichtlich nur unter „N. Sieber“ publizierte, weil sie befürchten musste, dass der Artikel einer Frau nicht gedruckt werden würde. Nach damaliger Vorstellung war die Bildung einer Frau darauf auszurichten, dass sie ihren Pflichten als Ehefrau und

Mutter gerecht wurde; aus diesem Grunde verwendeten andere Frauen männliche Pseudonyme (Pseudoandronyme) für ihre schriftstellerischen oder wissenschaftlichen Tätigkeiten¹.

Durch die Idee des Autors, es einmal mit einer kyrillischen Schreibweise des Namens Nadine Sieber zu versuchen, ergab sich die Kombination Н. Зибер, denn das Dehnungs-e wird bei der Wiedergabe deutscher Namen im Russischen nicht transkribiert [22]. Beim Rückübersetzen in die damals gebräuchliche Deutschen Kurrentschrift (ähnlich der 1911 entwickelten Sütterlin-Schrift) sieht der Buchstabe Z ähnlich aus wie das gesummte S im Kyrillischen, wodurch der Schriftzug „N. Ziber“ entstand.

Надина Зибер Nadine Ziber

Abb. 5: Siber/Ziber-Schreibweisen kyrillisch/Sütterlin

Mit dieser Suche konnte die in Samara an der Wolga geborene Nadeschda Olimpijewna Ziber-Schumowa (Abb. 6) mit vollständigem Namen gefunden werden [23].



Foto: Gemeinfrei

Abb. 6: Nadine Sieber alias Nadeschda O. Ziber-Shumova, ca. 1900

Der Lebenslauf von Nadine Sieber alias Nadeschda Olimpijewna Ziber-Shumova (1854-1917 oder auch 1856-1916) ist auf der Homepage der Sächsischen Akademie der Wissenschaften vorhanden [24]. Wie sich beim genaueren Lesen herausstellt, handelt es sich um eine Pionierin unter den Wissenschaftlerinnen [25]: Die Tochter Olimpij Schumows, Erb-Ehrenbürgers in Samara, besuchte die Höheren Vladimir-Kurse (i.e. öffentliche Vorlesungen für Männer und Frauen) in Sankt Petersburg. Ab 1875 studierte sie Medizin an der Universität Bern, wo sie 1880 promoviert wurde. Ab 1877 war sie Mitarbeiterin und ab 1884 Assistentin von Marcellus Wilhelm von Nencki am Pathologischen Institut der Universität Bern. 1892 folgte sie Nencki nach St. Petersburg in die Chemische Abteilung des Kaiserlichen Instituts für Experimentelle Medizin (IEM). Nach Nenckis Tod 1901 übernahm sie dessen

¹ Beispielsweise publizierte die Schriftstellerin Ottilie Bach (1836-1905) unter O. Bach oder Otto Ulrichs.

Stelle, wurde 1912 als erste Frau „Ordentliches Mitglied“ am IEM und war somit die erste Frau mit wissenschaftlicher Leitungsfunktion in Russland.

Sieber arbeitete in St. Petersburg systematisch mit Proben von Muttermilch, die sie aus dem Kaiserlichen Findelhaus erhalten hatte, und überprüfte die Umikoff'sche Reaktion außer mit Ammoniak auch noch mit verschiedenen Aminen sowie deren Derivaten: Ethylamin, Anilin, Dimethylanilin, Pyridin, Picolin (Methylpyridin), Piperidin, Nicotin, Chinolin und Benzylamin. Dabei stellte sie unterschiedliche Farbreaktionen fest, die sich im Rahmen dieser Arbeit nachvollziehen ließen (siehe **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**), zum Teil aber auch falsch berichtet wurden, z.B. ergeben Benzylamin keine „citronengelbe“ und Ethylamin keine orange Farbe, sondern beide eine kirschrote Färbung [26]. Weiterhin war sie die erste, die –wenn auch nicht bewusst- eine Reaktion von Milchzucker mit Aminosäuren beschrieb, denn „Pepton“ ist der damals gebräuchliche Name für ein Eiweiß-Hydrolysat; dies wiederum ist nichts anderes als ein Gemisch von Aminosäuren:

getrieben. In zwei anderen wurde eine Spur Pepton Witte zugesetzt und daneben als Kontrolle 5%ige Milchzuckerlösung aufgestellt. Alle Röhrchen wurden zugleich auf 60° erwärmt. Die Färbung trat in allen Röhrchen etwas später als wie in der Milch resp. Milchsäure ein — erst nach 30 bis 45". — Die Kontrollprobe mit Milchzucker allein hatte eine röthliche Färbung. Den stärksten violetten Stich zeigten die Röhrchen mit Peptonzusatz und die, die bei Luftausschluss erwärmt wurden. In den Röhrchen, die bei Luftzutritt mit verschiedenem

Abb. 7: Farbreaktion von Milchzucker mit einem Aminosäuregemisch (Sieber 1900, S.111)

6. Alfred Wöhlk (1904)

Im Jahr 1904 arbeitete der in Frederikshavn geborene dänische Apotheker und Pharmazeut Alfred Wöhlk (1868-1949) an der Pharmazeutischen Lehranstalt Kopenhagen an der selbstgestellten Aufgabe, „ein Spezial-Reagens auf Milchzucker, beziehungsweise Galaktose, herauszufinden“ [1].

Nach seiner Arbeit an der Pharmazeutischen Lehranstalt Kopenhagen übernahm Alfred Wöhlk im Jahre 1910 die Triangeln-Apotheke in Kopenhagen (Abb. 8), die er bis zu seinem Tod im Jahre 1949 leitete.



Foto: Wiley, Lizenz 4927150882529

Abb. 8: Alfred Wöhlk im Kreis seiner Mitarbeiter in der Triangeln-Apotheke in Kopenhagen

Für seine Publikation aus dem Jahre 1904 testete Wöhlk verschiedene Zucker mit 10%iger Ammoniaklösung im heißen Wasserbad, offensichtlich ohne von den Arbeiten von Umikoff und Sieber zu wissen (s.o.). Wie er selbst schreibt, hätte er den Versuch fast schon verworfen, wenn er nicht nach einer halben Stunde noch einmal zufällig auf die Reagenzgläser geschaut und zu seinem Erstaunen „eine prachtvolle, lebhaft rote Farbe“ entdeckt hätte.

Verhalten des Ammoniaks unter ähnlichen Umständen. — Nach mehreren vergeblichen Versuchen verschiedener Art, die nicht zum Ziele führten, prüfte ich deshalb das Verhalten des Traubenzuckers Ammoniak gegenüber.

Ich löste zirka $\frac{1}{2}g$ Milchzucker in etwa 15 cc 10-prozentigem Ammoniak auf und erhitze sofort bis zum Sieden. Es trat keine Farbenänderung ein, und ich hätte beinahe auch das Weiterverfolgen dieses Versuchs aufgegeben, besonders da ein gleichzeitiger Versuch mit gewöhnlichem Traubenzucker (roh und etwas gelblich) keine besondere Farbenänderung gab. Nach Verlauf einer halben Stunde beobachtete ich die Reagenzgläser, und es zeigte sich dann, dass die eine Flüssigkeit von einer prachtvollen, lebhaft roten Farbe war. Beim Wiederholen des Versuches ergab es sich bald, dass der Milchzucker die rote Farbe veranlasst hatte. Man erkennt noch deutlich die rote Farbe, die beim

Abb. 9: Faksimile eines Textausschnittes von Alfred Wöhlk

Wöhlk untersucht daraufhin noch weitere Zucker mit 10%iger Ammoniaklösung in einem Wasserbad, „das eben zu kochen aufgehört hat“ und stellt weitere Nachforschungen an, da es ihm sehr sonderbar schien, „dass eine solche Beobachtung nicht früher gemacht und als Milchzuckerreaktion verwendet worden sein sollte [1]. Dabei stößt er auf Lobry de Bruyn [11] und van Leent (s.o., [12]); letzterer hatte zwar eine rote Färbung entdeckt, aber nicht weiter ausgeführt. Wöhlk schreibt dazu: „Dieser Beobachtung hat er (i.e. van Leent) aber offenbar keinen Wert beigelegt, und in Betreff der Maltose macht er überhaupt keine entsprechende Bemerkung.“

Auffällig in Wöhls Bericht ist, dass er die „prachtvolle rote Farbe“ seiner Reaktion als „krapprot“ bezeichnet. Krapp ist ein Farbstoff, der ursprünglich aus der Krapp-Pflanze (*Rubia tinctorium* L.) gewonnen wurde und seit 1869 nach dem preisgünstigeren Verfahren von Graebe und Liebermann bzw. Perkin aus dem im Steinkohlenteer enthaltenen Anthracen technisch hergestellt werden konnte [27]. Durch den Niedergang des Krapp-Anbaus ging das Wort im Sprachgebrauch nach und nach verloren und wurde in Bezug auf die Wöhlk-Probe durch „lachsrot“ ersetzt [28].

Die allererste Wöhlk-Probe wurde wie folgt durchgeführt: „0,7 bis 0,5 g Milchzucker werden in einem schmalen Reagensglas (sic!) in 10 cc 10-prozentigem Ammoniak gelöst. Dieses wird danach in ein Dampfbad oder in ein Wasserbad gestellt, das eben zu kochen aufgehört hat (...)“ [1]. Nachfolgend gab es verschiedene Abwandlungen der Reaktionsbedingungen; die wichtigste stammt von Hans Malfatti [29]; aber auch ohne Änderung wird die Wöhlk-Probe bis heute zur Identitätsbestimmung von Lactose in der US-Pharmakopeia [30] aufgeführt und gelangt z.B. zur Bestimmung von Lactose in Asthma-Inhalern (ähnlich wie Dosieraerosole) zur Anwendung [31]. Maßgeblich für Deutschland ist das Europäische Arzneibuch, in dessen 8. Ausgabe (2014) die Durchführung der Wöhlk-Probe ohne Nennung des Namens auf S. 3820 zur Prüfung von Lactose-Monohydrat auf Identität aufgeführt ist [32].

Tabelle 1: Farbergebnisse bei Nachweisen nach Wöhlk und Fehling		
Zucker	Wöhlk-Probe*	Fehling-Probe**
Reduzierende Monosaccharide, z.B. Glucose, Fructose	gelb	rot
Reduzierende Disaccharide, z. B. Lactose, Maltose	rot	rot
Nicht-reduzierende Zucker, z. B. Saccharose	farblos	blau

* Gleiche Farbergebnisse beim Fearon-Test und beim Diaminohexan-Verfahren

** Gleiche Farbergebnisse beim Benedict-Test und anderen Verfahren mit Kupfer(II)-Ionen

Eine vereinfachte Reaktionsgleichung ist in Abb. 109 dargestellt. (Anmerkung: Die wellenförmige Bindung, im englischen Sprachgebrauch als „wavy bond“ bezeichnet, soll darauf hindeuten, dass an dieser Stelle durch ständige Ringöffnungen und –schließungen zwei verschiedene räumliche Richtungen der OH-Gruppe sowie eine Aldehydgruppe möglich sind (Mutarotation).)

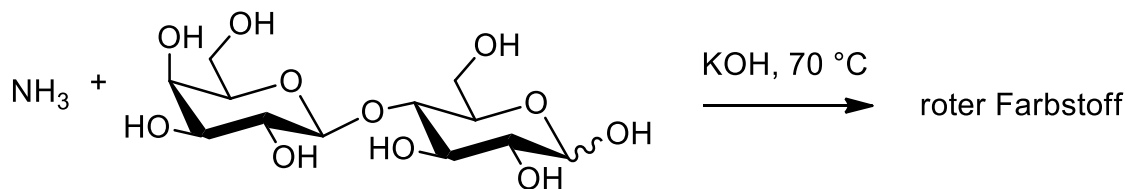


Abb. 10: Vereinfachte Reaktionsgleichung zur Wöhle-Malfatti-Reaktion mit Lactose

7. Johann (Hans) Baptist Malfatti (1905)

Wenige Monate nach der Publikation von Wöhle meldet sich der Innsbrucker Urologie-Professor Johann (Hans) Baptist Malfatti (1864-1945) aus Innsbruck mit einer vierseitigen Veröffentlichung in einer Fachzeitschrift zu Wort: „Gar nicht selten tritt an den Harnanalytiker die Frage heran, ob eine reduzierende Substanz im Harne Milchzucker oder Traubenzucker sei, oder mit anderen Worten: ob sich im konkreten Falle im Verlaufe der Schwangerschaft Diabetes entwickelt habe oder ob nur ein harmloser Fall von Laktosurie vorliegt“ [29]. Das nachfolgende Faksimile von Hans Malfatti, Urologieprofessor aus Innsbruck, verdeutlicht den Nutzen der Wöhle-Probe für die Medizin.

Über den Nachweis von Milchzucker im Harne.

Von

Dr. Hans Malfatti.

Gar nicht selten tritt an den Harnanalytiker die Frage heran, ob eine reduzierende Substanz im Harne Milchzucker oder Traubenzucker sei, oder mit anderen Worten: ob sich im konkreten Falle im Verlaufe der Schwangerschaft Diabetes entwickelt habe, oder ob nur ein harmloser Fall von Laktosurie vorliegt. Im wohleingerichteten Laboratorium ist die Beantwortung dieser Frage gerade keine schwere Aufgabe; die Reindarstellung des Kohlehydrates, das Verhalten im Polarisationsapparat, die Nichtvergärbarkeit mit Apiculatus-Hefe, die Bildung charakteristischer Laktosazone und der Schleimsäure geben Anhaltspunkte genug. Aber schnell und leicht ausführbare und dabei doch zuverlässige klinische Reaktionen auf Milchzucker gibt es bis jetzt nicht. In der Praxis begnügte man sich gewöhnlich mit Anstellung der Gärungsprobe, wobei Milchzucker mit guter Hefe oft mehr als einen Tag lang im warmen Zimmer der Vergärung widersteht. Manche unreine Hefen des Handels aber greifen auch Milchzucker ziemlich rasch an, und wenn neben dem Milchzucker auch etwas Dextrose sich findet, so wird der Nachweis des Milchzuckers oft sehr schwierig. Da nun nach den Untersuchungen von Ch. Porcher und Commandeur¹⁾ vor der Entbindung häufig eine Glykosurie sich findet, die dann allmählich in die Laktosurie nach der Entbindung übergeht, so ist ein solches Vorkommen nicht allzu selten zu erwarten.

In jüngster Zeit hat nun Alfred Woehlk²⁾ eine neue, sehr interessante Reaktion auf Milchzucker angegeben, die darauf beruht,

¹⁾ Compt. r. d. l'Acad. des Sciences 138, pag. 862.

²⁾ Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. 43, S. 670.

Abb. 11: Faksimile eines Textausschnittes von Hans Malfatti

Nach seiner Pensionierung im Jahre 1924 [33] kehrte der in Rovereto (Gardasee, Italien) geborene Johann (Hans) Baptist Malfatti von Innsbruck an seinen Geburtsort zurück. Dort wurde er 19 Jahre später Opfer von Nazi-Unrecht: Am 25. März 1943 wurde ihm auf Betreiben der Gestapo-Leitstelle Wien die deutsche Staatsbürgerschaft entzogen, gleichzeitig wurde er für unwürdig erklärt, einen Dokortitel zu tragen [34,35].

Malfatti verbesserte die Wöhlk-Reaktion durch den Zusatz von fünf Tropfen 1-molarer Kalilauge, weswegen die Reaktion eigentlich fortan „Wöhlk-Malfatti-Reaktion²“ heißen müsste und in einigen Fundstellen auch so zu finden ist [36]. Dadurch verschafft er der bis dahin nur im pharmazeutischen Lehrbetrieb genutzten Nachweisreaktion von Alfred Wöhlk eine klinische Anwendung, die über Jahrzehnte hinweg in Kliniken, Arztlaboren, sowie in der Ärzte-, Apotheker- und PTA-Ausbildung verwendet wurde [37–42].

Die Zugabe von Kalilauge hat folgende Funktionen: Erstens benötigt die Wöhlk-Reaktion streng alkalische Bedingungen (pH 12-13) und kann durch sauren Urin oder darin vorhandene puffernde Substanzen (z.B. Phosphate) misslingen, zweitens verkürzt sich dadurch auch der Zeitaufwand. Hierzu gibt es weitere Abwandlungen von Konzentrationen und Temperaturen des Wasserbades, z.B. 60 °C / 80°C / 90° C, 25%ige Ammoniaklösung, Zugabe von mehr Kalilauge, usw. [43].

Alle diese Abwandlungen bergen aber die Gefahr, dass die Wöhlk-Malfatti-Reaktion in die späte Maillard-Reaktion [44] entgleitet und eine unerwünschte Melanoid-Bildung stattfindet, zu erkennen an der unschönen schwarz-braunen Farbe.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Wöhlk-Probe seit ihrer Entdeckung im Jahre 1904 vielfach bezüglich der verwendeten Mengen an Ammoniak, der Durchführungstemperatur und der Menge an hinzugegotter Lauge geändert worden ist, um a) eine Beschleunigung und b) eine Erhöhung der Aussagekraft (Misslingen vermeiden) zu erreichen. Die drei wichtigsten Varianten sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Varianten der Wöhlk-Probe von 1904 bis 1980			
Quelle:	Über eine neue Reaktion auf Milchzucker und Maltose [1]	Über den Nachweis von Milchzucker im Harn [29]	Untersuchungen von Harn und Konkrementen [40]
Verwendete Reagenzien:	10 mL Ammoniaklösung 10%ig, dazu Zucker geben (Gewichtsanteil: 5%)	5 mL Urin, 2,5 mL starke Ammoniaklösung, dazu 5 Tropfen Kalilauge	5 mL Urin, 2-3 mL Ammoniaklösung 25%ig, 5 Tropfen Kalilauge 3,6 mol/L
Art des Erhitzens:	15-20 min. im Dampfbad	5 min. im heißen, nicht siedenden Wasserbad.	30 min. im Wasserbad (50-70 °C)

² Zur Vereinfachung wird im folgenden Text die Bezeichnung „Wöhlk-Probe“ bevorzugt.

8. Claude Gautier und Albert Morel (1906)

In der Zeitschrift der „Société de biologie“ erscheint im Jahre 1906 ein kleiner, einseitiger Artikel, die die Entstehung einer sehr intensiven kirschroten Farbe beschreibt, wenn Kuhmilch mit einem Fünftel ihres Volumens an 40%iger Kalilauge für 24 Stunden stehen gelassen wird (siehe Faksimile in Abb. 12) [45].

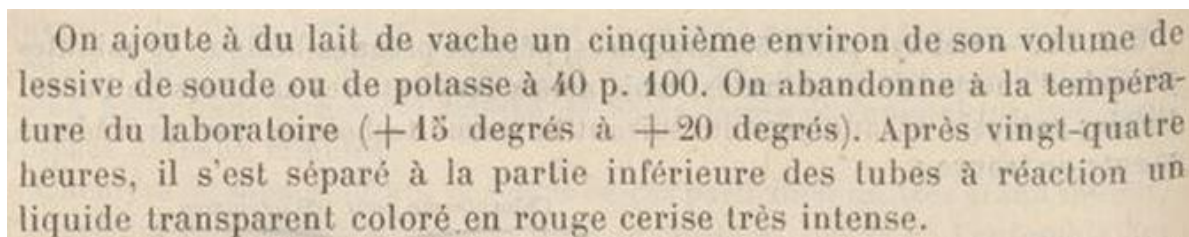


Abb. 12: Faksimile aus Gautier/Morel 1906

Claude Gautier und Albert Morel hatten an der Universität Lyon zu 10 mL Milch 2 mL Kalilauge ($\omega = 40\%$) gegeben und bei Raumtemperatur (15 - 20 °C) stehengelassen. Nach 24 Stunden bildete sich im Reagenzglas eine untere transparente Schicht mit einer sehr intensiven kirschroten Farbe („rouge cerise très intense“) [45]. Diese Reaktion wurde im Folgenden als „Réaction de A. Morel et C. Gautier“ bezeichnet und im Rahmen der 1934 erschienenen Doktorarbeit von Renée Rochat (s.u.) genauer untersucht.

Albert Morel (1875-1953) wurde 1902 in Lyon zum Doktor der Medizin promoviert und war ab 1910 Professor für organische Chemie an der medizinischen Fakultät der Universität Lyon [46]. Seine bevorzugten Forschungsgebiete waren Blutfette und Abbauprodukte von Proteinen.

Claude Gautier wurde 1883 in Lyon geboren und promovierte 1910 ebendort an der medizinischen Fakultät mit einer Arbeit über Urin- und Fäkalfarbstoffe [47].

9. Friedrich Karl von Krüger (1907)

Im fast 7000 km entfernten Tomsk wird der Professor für physiologische Chemie Friedrich Karl von Krüger auf die in französischer Sprache abgefasste Notiz von Gautier und Morel aufmerksam (siehe oben) und erinnert sich daran, dass er etwas Ähnliches bereits 1894 in Dorpat (heute Tartu/Estland) beobachtet hat, doch durch ein Versehen des Herausgebers wurde sein Bericht nicht veröffentlicht. Daher stellt er umfangreiche Beobachtungen an, die sich über einen Zeitraum von bis zu 60 Stunden erstrecken, und schreibt rasch an die Redaktion der Zeitschrift für physiologische Chemie. Diese erhält sein Schreiben am 1. Dezember 1906 und veröffentlicht auf zehn Druckseiten den folgenden Artikel: „Über eine eigentümliche Veränderung der Milch durch Natron resp. Kalilauge“ [48].

Friedrich Karl von Krüger (Abb. 13) wurde am 24. April 1862 in St. Petersburg geboren und war nach seinem Medizinstudium in Estland und Zwischenstationen in Heidelberg und Rostock von 1895-1914 Professor für physiologische Chemie an der Universität Tomsk, Sibirien [49]. Dort verfasste er ein „Lehrbuch der medicinischen Chemie“ [50]. Aufgrund des politischen Geschehens in Russland flüchtete er 1916 nach Dorpat (heute Tartu/ Estland) und 1918 nach Rostock, wo er von 1921-1937 als Professor am Institut für Physiologische Chemie an der Medizinischen Fakultät lehrte. Am 13. Januar 1938 verstarb Friedrich Karl von Krüger in Braunschweig.

In seinem Aufsatz über die Reaktion von Milch mit starken Laugen beschreibt er mehrere Versuchsreihen, bei denen nach zunächst 30 Stunden, später fünf Stunden, eine kirschrote Farbe mit einem Absorptionsmaximum von 555-556 nm entsteht [48].



Foto: Universitätsarchiv Rostock (20.08.2020 Kamlah)

Abb. 13: Friedrich Karl von Krüger, 1862-1938

Dazu verweist Krüger auf eigene, frühere Befunde (im Jahre 1894 in Dorpat, heute: Tartu/Estland), die versehentlich nicht publiziert wurden, und auf Befunde der französischen Forscher Gautier und Morel [45].

Zwar verfolgten sowohl Krüger als auch Gautier und Morel nicht die Absicht, eine Nachweisreaktion für Lactose zu finden, dennoch müssen sie in diesem Zusammenhang Erwähnung finden, weil sie – ohne es zu wissen- die Reaktion von Lactulose mit einer Aminosäure beschreiben.

Auch Krüger hat sich vergeblich um die Isolierung des kirschroten Farbstoffs bemüht: „Alle Versuche, den Farbstoff zu isolieren, sind bisher erfolglos geblieben“ (Seite 21 in [48]).

10. Renée Rochat (1934)

Renée Rochat wurde am 14. Juni 1908 in Grenoble, Département Isère, Frankreich, geboren und arbeitete an der Universität Lyon in der Fakultät für Medizin und Pharmazie. Dort fertigte sie unter Leitung ihres Doktorvaters („Président du Thèse“) Albert Morel ihre 1934 in französischer Sprache veröffentlichte Dissertation an, in der sie die bereits von Krüger erwähnte Reaktion von Gautier und Morel genauer untersucht [51].

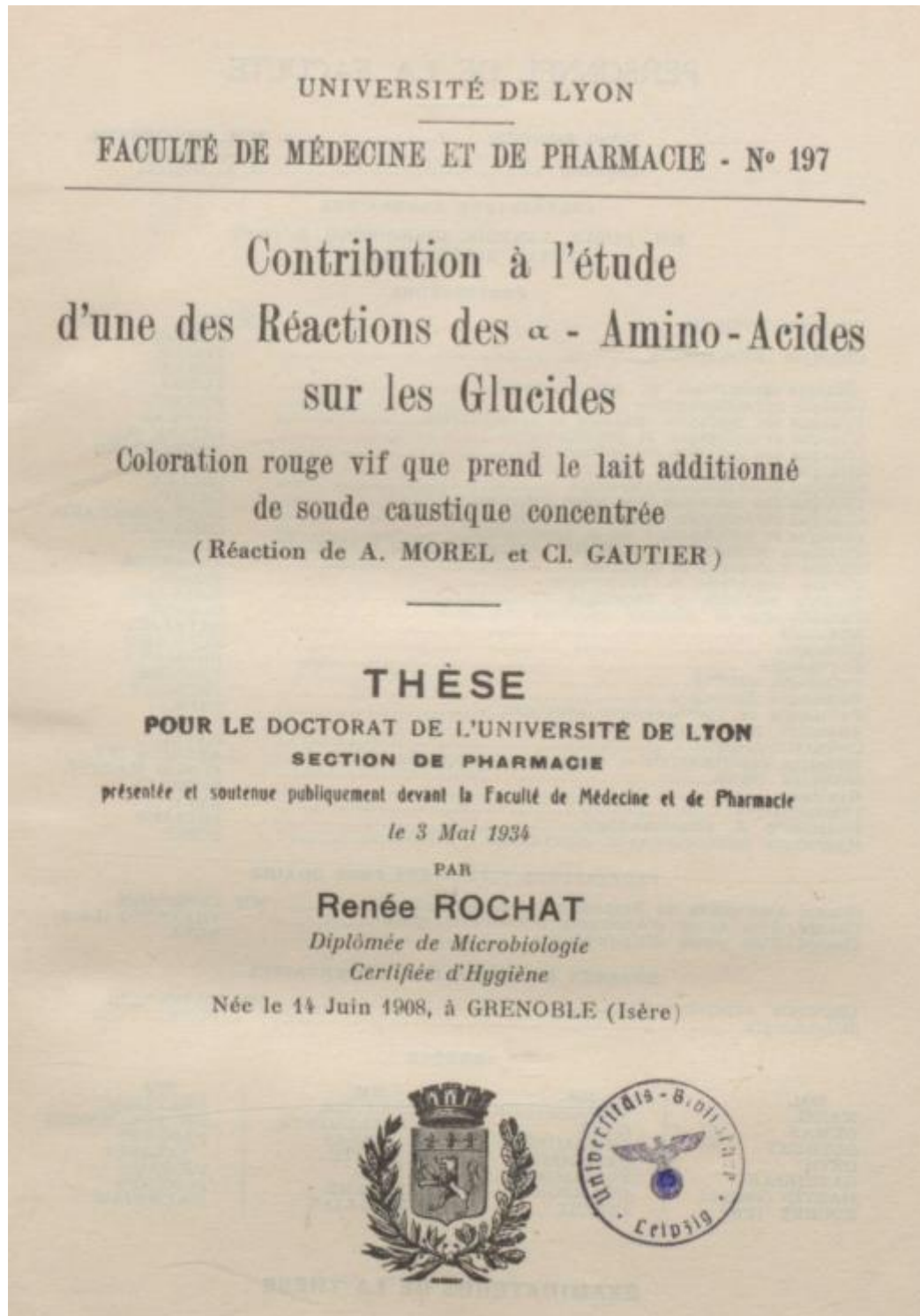


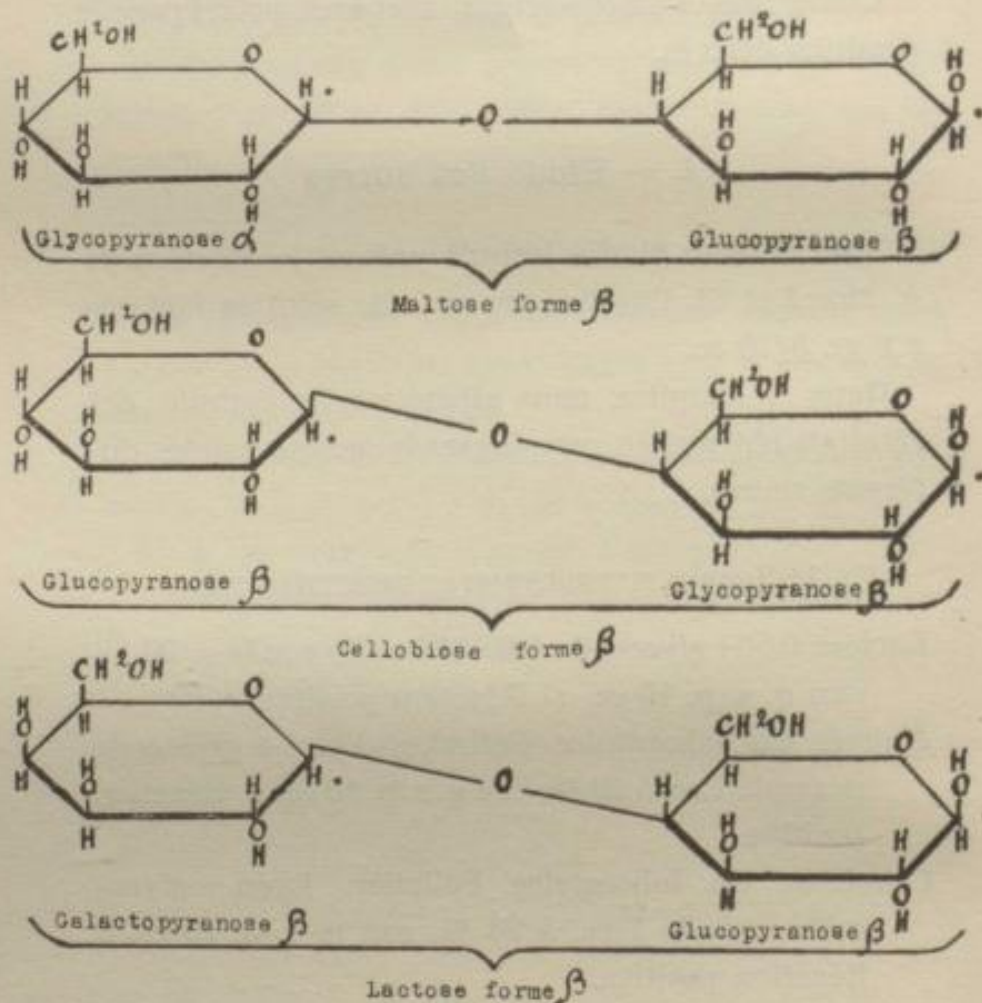
Abb. 14: Dissertation von Renée Rochat, deutscher Alleinbesitz: UB Leipzig

Über den weiteren Lebenslauf von Renée Rochat ist leider nichts bekannt. Auch gibt es keine auffindbaren Zitationen ihrer Dissertation oder weitere Publikationen.

Auf 90 Seiten berichtet Renée Rochat über verschiedene sorgfältig durchgeführte und protokollierte Experimente, bei denen sie u.a. herausfand, dass die bei Milch beobachtete Färbung folgende unverzichtbare Bestandteile benötigt: a) Lactose und b) Casein bzw. aus dem Casein die Aminosäuren Glycin (damals noch Glycokoll genannt), Lysin, Cystin und Taurin. Sie fand und berichtete Fehler, die bei früheren Untersuchungen gemacht wurden; so sollten auch Leucin, Alanin und Phenylalanin den roten Farbstoff ergeben; dies war jedoch höchstwahrscheinlich Verunreinigungen der jeweiligen Substanzen, z. B. mit Glycin, bei früheren Untersuchungen geschuldet. Auch Renée Rochat hatte noch mit verunreinigten Substanzen zu kämpfen, denn weder das Monomer Cystein noch das Dimer Cystin ergeben bei heutigen Kontrollexperimenten einen roten Farbstoff. Taurin, heutzutage vor allem bekannt aus sogenannten „Energy-Drinks“, ist gar keine Amino(carbon)säure, sondern eine Aminosulfonsäure. Auch sie ergibt einen roten Farbstoff³. Erstaunlicherweise verfügte Renée Rochat neben Lactose und Maltose auch über Cellobiose und spricht von „gleicher Struktur“: „Le lactose, maltose et cellobiose ont la même structure.“ (Seite 34 in [51]). Dies führt sie auf den Folgeseiten genauer aus und erklärt, dass die drei Disaccharide als einzige Unterschiede entweder eine α - oder β -glycosidische Bindung oder Galactose anstelle von Glucose besitzen, ansonsten aber gleich sind (Abb. 15).

³ Taurin ist der Trivialname von 2-Aminoethansulfonsäure (siehe auch 12.1.3)..

La cellobiose et le maltose se distinguent par une configuration différente de la liaison glucosidique : forme α dans la maltose, forme β dans le cellobiose.



(5) The constitution of the disaccharide, Part 17 (maltose). *Journ. Chem. Soc.*, 1926, 3094.

(6) The constitution of the disaccharide, Part 12 (lactose). *Journ. Chem. Soc.*, 1927, 544.

(7) The constitution of the disaccharide, Part 16 (cellobiose). *Journ. Chem. Soc.*, 1927, 2809.

Abb. 15: Strukturformeln von Lactose, Maltose und Cellobiose (aus Rochat 1934, S. 34)

Renée Rochat untersuchte auch schon die Reaktion der genannten Disaccharide mit Methylamin, das nach ihren Ergebnissen keine rote Farbe verursacht (S. 58 in [51]). Eine mögliche Erklärung für diesen Irrtum könnte sein, dass der pH-Wert nicht alkalisch genug eingestellt wurde.

Auch wenn Renée Rochat nicht die Absicht verfolgte, eine Nachweisreaktion zu finden, so sind ihre Ergebnisse wichtig, denn sie beinhalten schon wichtige Kernaussagen zur Entstehung des roten Farbstoffs, die vom Autor erst nach 2015 wiederentdeckt wurden.

Die Dissertation von Renée Rochat wurde erst 2020 durch einen Zufall gefunden, und zwar über die Arbeit von Friedrich Karl von Krüger, der Morel und Gautier zitiert. Über die Recherche nach Morel und Gautier ergab sich, dass die Universitätsbibliothek Leipzig im deutschen Alleinbesitz ein Exemplar der Arbeit von Renée Rochat besitzt. Vorherige Recherchen, insbesondere auch nach französischer Literatur zu Nachweisreaktionen für Lactose, Maltose, Zucker etc. schlugen fehl, weil die Überschrift und der Inhalt der gedruckten Dissertation schlecht bzw. nicht indexiert sind.

11. William Robert Fearon (1942)

Eine dem Wöhlk-Test sehr ähnliche Nachweisreaktion ist Fearon's Test⁴ [52], der sich in Irland, Großbritannien, USA, Indien und Teilen der arabischen Halbinsel großer Beliebtheit erfreut und wohl auch noch aktuell gelehrt wird: Die jüngste Erwähnung (neben eigenen Arbeiten) ist in einem Lehrbuch über medizinische Laborwissenschaft zu finden [53]. Anstelle von Ammoniak wird bei diesem Verfahren Methylamin verwendet. Da Methylamin unter Normalbedingungen ein Gas ist, das recht unkomfortabel aus Stahlmantelflaschen entnommen werden müsste, ist es laborüblich, ein Salz des Methylamins zu verwenden und dieses in eine alkalische Lösung zu geben. Methylamin wird also in situ aus Methylamin-Hydrochlorid (auch: Methylammoniumchlorid, $\text{CH}_3\text{NH}_3\text{Cl}$) hergestellt.

William Robert Fearon (1892-1959) war nicht nur als Biochemiker am Trinity-College in Dublin (Abb. 16) tätig, sondern wesentlich bekannter durch seine langjährige Mitgliedschaft im 4. bis 9. Senead Éireann, dem irischen Senat und Oberhaus des irischen Parlaments [54,55]. Die erste Auflage seines Lehrbuchs „Fearon's Introduction to Biochemistry“ erschien 1934, seine vierte und letzte Auflage erschien 1961 posthum [56].

⁴ Zur Vereinfachung wird im folgenden Text die Bezeichnung „Fearon-Test“ bevorzugt.



Foto: Trinity College, Dublin

Abb. 16: William R. Fearon (oben rechts) vor dem Trinity-College, Dublin

Bei der Durchführung von Fearon's Test gibt es verschiedene Versionen: In der ursprünglichen Veröffentlichung [52] und im Lehrbuch „Fearon's Introduction to Biochemistry“ [56] wird die Probe noch *vor* der Zugabe von Natronlauge „30 Sekunden“ bzw. kurz („briefly“) über der Brennerflamme aufgekocht. Hierbei besteht die Gefahr eines Siedeverzuges; deshalb ist die Variante von Ochei (Tabelle 3) mit einem heißen Wasserbad zu bevorzugen [53].

Weitere Unterschiede bestehen darin, dass die Probe a) *ohne* Natronlauge kurz über der Flamme aufgekocht wird und erst während des Abkühlens alkalisch gemacht wird oder b) *erst alle Chemikalien* zusammen gegeben werden und *dann erhitzt* wird. Letztendlich führen aber alle Verfahren zum Erfolg. Nachdem Fearon in seiner ersten Publikation zu der hier besprochenen Nachweisreaktion [52] lediglich Lactose und Maltose anführte, wurde in dem später erschienenen Lehrbuch [56] auch schon das Disaccharid Cellobiose aufgeführt, das aus zwei β -1,4-glycosidisch verknüpften Glucosemolekülen besteht. Ohne dass es explizit erwähnt worden wäre, deutet sich hier nach Renée Rochat ein zweites Mal an, dass es sich nicht um eine Nachweisreaktion für einen bestimmten Zucker handelt, sondern für *einen Verbindungstyp*, nämlich Disaccharide, die aus zwei 1,4-glycosidisch verknüpften Glucosemolekülen bestehen, wobei ein Glucosemolekül auch durch Galactose substituiert sein kann.⁵ Fearon kannte auch die Arbeiten von Wöhlk, Sieber und Umikoff, wie sich aus dem nachfolgenden Faksimile ergibt. Besonders interessant hieran ist, dass er „diese Ammoniumhydroxid-Tests“ als

⁵ Theoretisch könnten auch andere Verknüpfungen eine Rolle spielen, z. B. Isomaltose mit einer 1,6-Verknüpfung, was aber in der Praxis nicht zutrifft.

unzuverlässig bezeichnete und bereits vermutetet, dass bei der Wöhlk-Probe nicht der Ammoniak an sich die Farbreaktion verursacht, sondern ein Amin, welches aus Ammoniak und einem Aldehyd aus dem alkalischen Zuckerabbau entstanden ist.

Umikoff's reaction was studied by Sieber,⁴ who concluded that citrate is necessary for colour development. Wöhlk, on the other hand, found that maltose gave a similar reaction, and that both the lactose and maltose colour obtained on prolonged heating with strong ammonium hydroxide was inhibited by citrate.

I have found these ammonium hydroxide tests erratic and untrustworthy. When positive, they are probably due to the formation of an amine (by interaction between an aldehyde broken off from the sugar and the ammonia), and subsequent reaction between the amine and the carbohydrate.

Abb. 17: Faksimile eines Textausschnittes von William Robert Fearon [52]

Tabelle 3: Varianten des Fearon-Tests von 1942 bis 2000

Quelle:	The detection of lactose and maltose [52]	Fearon's Introduction to Biochemistry [56]	Medical Laboratory Science [53]
Verwendete Reagenzien:	Zuckerkonzentration 0,1% bis 1%, ansonsten verdünnen. Auf 4 mL Probelösung 3-4 Tropfen einer 5%igen Methylammoniumchlorid-Lösung und 3-5 Tropfen einer 10%igen Natronlauge	Fünf Tropfen einer 5%igen Methylammoniumchlorid-Lösung zu 5 mL einer neutralen Lösung geben. Genügend (10 Tropfen) einer 20%igen NaOH-Lösung.	1 mL Methylammoniumchlorid-Lösung, $\omega=0,2\%$ 0,2 mL Natriumhydroxid-Lösung, $\omega=10\%$ 5 mL Urin
Reihenfolge der Zugabe der Reagenzien:	Erst Methylamin hinzugeben, dann erhitzen, dann Natronlauge. Alternativ: Zucker und Methylamin alkalisch machen, dann aufkochen.	Erst Methylamin, dann erhitzen, dann Natronlauge: „Kurz über der Flamme aufkochen, abkühlen lassen, noch während es warm ist, genügend (10 Tropfen) einer 20%igen NaOH-Lösung hinzugeben.“	Erst alle Reagenzien zusammengeben, dann erhitzen
Art des Erhitzens:	30 Sekunden über der Flamme aufkochen, dann sofort 3-5 Tropfen einer 10%igen Natronlauge, oder aber die alkalische Lösung erhitzen.	Kurz über der Flamme aufkochen, abkühlen lassen.	Wasserbad 56 °C, 30 Minuten, anschließend auf Raumtemperatur abkühlen lassen
Erklärung:	„Mit Alkalien ergibt sich eine gelbe Farbe (...), die sich in karminrot verändert, wenn Lactose oder Maltose anwesend sind. Das Pigment ähnelt Versuchen von Feigl und Anger“ [52]	Reduzierende Zucker bilden durch die Alkali-Endiol-Reaktion eine gelbe Farbe; „if the yellow changes to bright carmine the sugar is maltose, lactose, cellobiose or other reducing oligo-saccharide“ [56].	Endiol-Bildung aufgrund von Umlagerung der Keto- bzw. Aldehydgruppe. Das Endiol reagiert mit Methylammoniumchlorid und bildet einen roten Komplex.

12. Thomas Andrew Nickerson (1976)

Thomas Andrew Nickerson (1921-1978) war Professor für Ernährungswissenschaft und Lebensmitteltechnologie an der Universität Davis (California). Im Alter von 57 Jahren verstarb Thomas Andrew Nickerson (Abb. 18) an den Folgen eines Herzinfarkts [57].



Foto: University Davis, speccoll@ucdavis.edu vom 2020-10-26

Abb. 18: Thomas A. Nickerson, 1921-1978, Davis (Kalifornien/USA)

1976 veröffentlichte er zusammen mit I.F. Vujicic und A.Y. Lin eine Anleitung zur kolorimetrischen Messung von Lactose und ihrer Hydrolyseprodukte [58]. Dabei untersuchte er auch das pH-Optimum von Fearon's Test, das bei pH 12,7 liegt. Schon geringe Abweichungen des pH-Werts führen zu Farbvarianten: orange-rot bei pH 12,5 und zu gelb bei pH 13,25 – darüber hinaus sogar zum Misslingen der Reaktion.

Das Temperaturoptimum des Versuchs liegt bei 65 °C; bei dieser Temperaturvariante wird die höchste Extinktion nach 30 Minuten erreicht; anschließend geht die Extinktion wieder zurück, da der Farbstoff nicht stabil ist und zerfällt.

Die Beobachtung, dass der verwendete NaOH-Glycin-Puffer mit Lactose über Nacht ebenfalls eine rote Farbbildung verursacht, wurde zunächst mit einem Strecker-Abbau erklärt, den Aminosäuren erleiden, wenn sie in einer wässrigen Lösung zusammen mit reduzierenden Zuckern erhitzt werden [59,60]: Aus

Glycin (Abb. 19) entstünde durch Abspaltung von Kohlenstoffdioxid Methylamin. Diese Theorie ist aber obsolet, da –wie bereits von Renée Rochat berichtet und bei eigenen Versuchen regelmäßig beobachtet- ein roter Farbstoff auch aus der Reaktion von Glycin und Lactose unter stark alkalischen Bedingungen entsteht [51].

Dieses Ergebnis erscheint durch den systematischen Vergleich verschiedener Laborbefunde nicht mehr ungewöhnlich, denn Glycin besitzt als einzige von den proteinogenen Aminosäuren eine CH₂-Gruppe zwischen der Amino- und der Säuregruppe. Diese abstandhaltende CH₂-Gruppe wird im Folgenden auch „Spacer-Gruppe“ genannt.

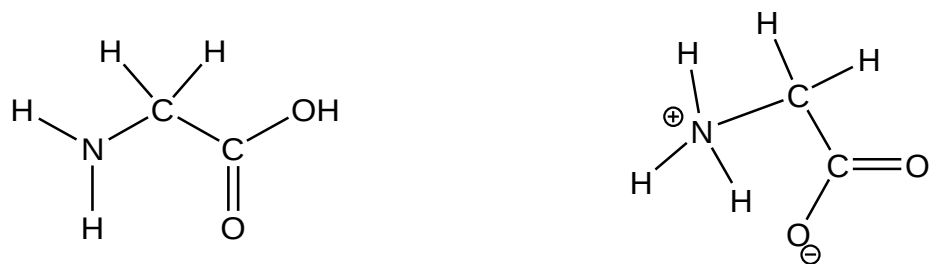


Abb. 19: Strukturformel von Glycin (links neutrale, rechts zwitterionische Schreibweise)

Außer Glycin ergeben auch Lysin, γ-Aminobuttersäure und β-Alanin einen roten Farbstoff, aber aus einem anderen Grund: Sie verfügen über eine zweite Aminogruppe, die ihrerseits über eine Spacer-Gruppe verfügt.

13. Diaminohexan-Verfahren (2019)

Durch systematische Laboruntersuchen an der Europa-Universität Flensburg wurde vom Autor entdeckt, dass auch das Diamin 1,6-Diaminohexan (alias Hexamethyldiamin) analog zum Fearon-Test einen roten Farbstoff bildet. Gemäß Ersatzstoffprüfung (siehe Tabelle 4) schneidet eine Lösung von 1,6-Diaminohexan ($c = 0,025 \text{ mol/L}$) noch besser ab als eine Methylammoniumchlorid-Lösung (Fearon-Test) gleicher Konzentration.

Da der seit Jahren schulübliche Stoff 1,6-Diaminohexan („Nylon-Seil-Trick“, [61]) aufgrund der langen Lagerung meistens verklumpt vorliegt und schlecht mit dem Spatel entnommen werden kann, bietet sich ein Erwärmen des Vorratsgefäßes und die Entnahme per Pipette zur Herstellung einer Fertiglösung an.

Die 1,6-Diaminohexan-Fertiglösung ($c = 0,025 \text{ mol/L}$) kann auf mehrere Weisen verwendet werden:

- Für **Reagenzgläser** im 70 °C heißen Wasserbad: je 2 mL für dasselbe Volumen Milchprodukt oder Zuckerlösung (5% bis 0,1%) oder
- Für **vier 100 mL-Bechergläser** in der Haushalts-Mikrowelle, Einstellung **400 Watt**, Zeit: **60 Sekunden**: je 5 mL Fertiglösung und 5 mL Milchprodukt oder Zuckerlösung (5% bis 0,1%).

(*Achtung, die Reaktionszeit hängt von der Füllung des Garraumes ab, Aufkochen vermeiden!)
oder

c) Im heizbaren **Küvettenhalter** eines UV-Vis-Spektrometers: wie a), jedoch nur für Zuckerlösung (5% bis 0,1%), Vis-Maximum: 550 nm; bei zu hoher Konzentration mit 1 mm-Küvette arbeiten.

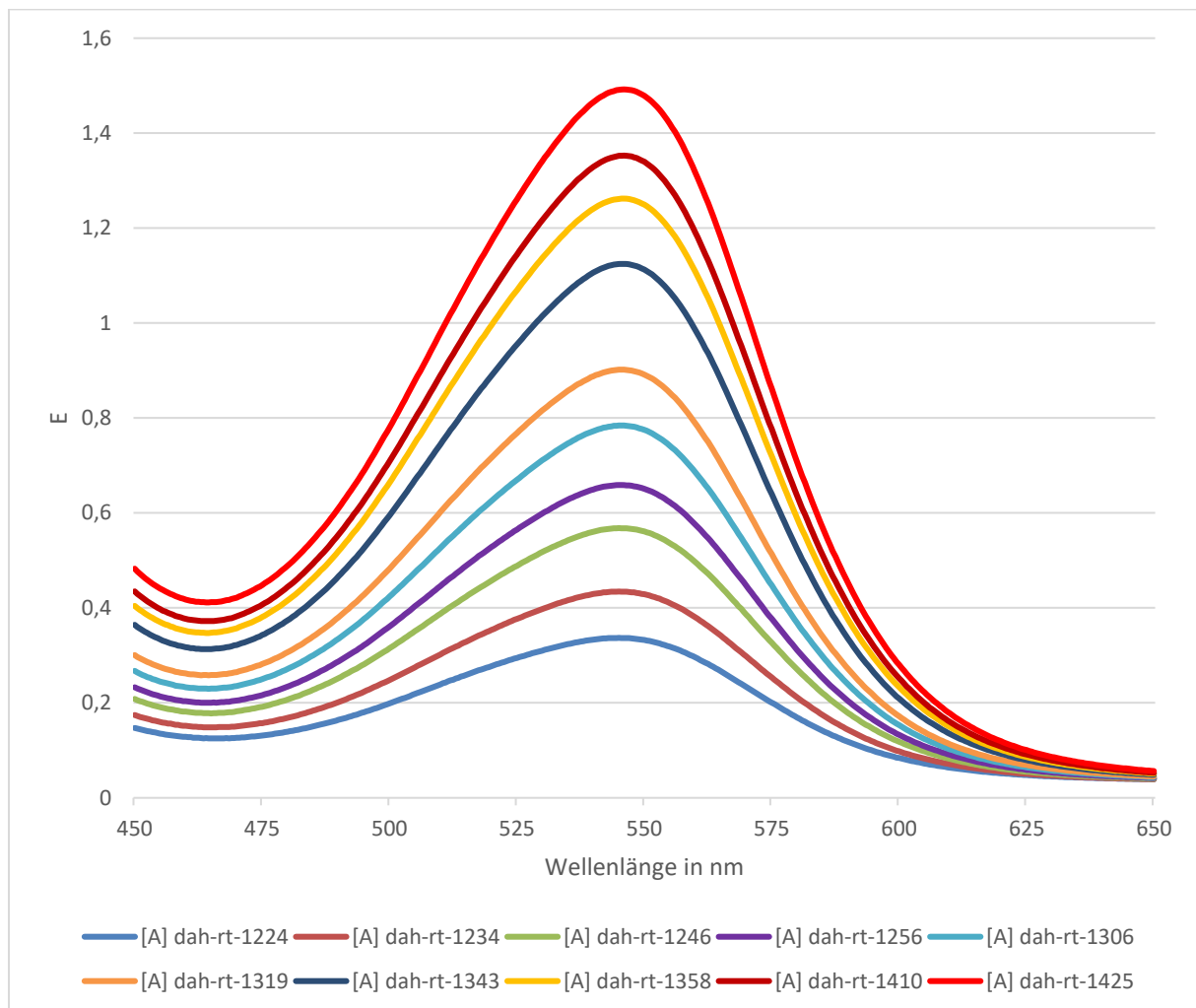


Abb. 20: Farbentwicklung Diaminohexan/Lactulose in 270 Minuten, rt: Raumtemperatur, dah: Diaminohexan, vierstellige Zahl: Uhrzeit

Zusätzlicher Vorteil des Verfahrens: Reduzierende Monosaccharide werden durch eine Gelbfärbung nachgewiesen, Lösungen mit nichtreduzierenden Zuckern bleiben farblos. Somit ist das 1,6-Diaminohexan-Verfahren aussagekräftiger und weniger gefährlich als die kupferhaltigen, Nachweismethoden nach Fehling, Benedict, Trommer usw.

Ähnliche Farbreaktionen: Auch andere Alkylamine und Derivate wie Ethylamin, 1-Propylamin, Cadaverin, Ethanolamin, GABA, ... ergeben ähnlich Farbreaktionen, jedoch sind diese Stoffe teilweise schwierig zu beschaffen bzw. besitzen teilweise ein extrem hohes Gefährdungspotential.

Begrenzungen: Das Verfahren ist ebenso wie die Wöhlk-Probe und der Fearon-Test nicht für streng quantitative Untersuchungen mit Erstellung einer Kalibrationsgeraden geeignet, da sich die rote Farbe einer einzigen Probe im Verlauf von bis zu 270 Minuten immer weiter vertieft (Abb. 20). Werden jedoch mehrere Proben unter gleichen Bedingungen zeitgleich getestet, so sind qualitative und semiquantitative Aussagen möglich.

Herstellung einer haltbaren Diaminohexan-Fertiglösung:

Unter dem Abzug wird die Vorratsflasche mit dem üblicherweise verklumpten 1,6-Diaminohexan für ca. eine Stunde in ein genügend großes Becherglas mit ca. 60 °C heißem Wasser gestellt, ähnlich wie man es auch bei auskristallisiertem Honig durchführt. Dabei wird ein Teil des Feststoffes flüssig. Mit einer Plastikspritze oder Einmalpipette zieht man ca. 1 mL der noch warmen Flüssigkeit auf und gibt sofort 0,73 g in eine austarierte 250 mL-Braunglasflasche, die auf einer Laborwaage steht. Anschließend gibt man 250 mL Natronlauge ($c = 0,1 \text{ mol/L}$) hinzu und vermischt vorsichtig und gründlich. Die Lösung ist ca. ein halbes Jahr haltbar; das Etikett ist mit dem Piktogramm GHS05 (metallkorrosiv), H290, dem Signalwort „Achtung“ und dem Herstellungsdatum zu versehen [62].

14. Fazit und Ausblick der geschichtlichen Entwicklung von Lactose- und Maltosenachweisen

In Kurzform lässt sich Folgendes sagen:

- Mit den Nachweisen von **Fehling, Campani, Rubner** und anderen ließ sich Lactose bereits ab 1848 als reduzierender Zucker nachweisen, diese Nachweise gaben aber keinen Aufschluss darüber, dass es sich um ein Disaccharid handelt. Glucose und andere reduzierende Zucker ergaben die gleiche positive Reaktion.
- Erst 1894 beobachtet und berichtet **Frederik Hendrik van Leent** (Amsterdam und Basel) eine rote Farbe, die sich bei der Reaktion von Lactose mit Ammoniak ergibt, beachtet sie aber nicht weiter [12].
- Zwei Jahre später (1896) nutzt **Nersess Sacharewitsch Umikoff** dieselbe Reaktion erstmals als einen Nachweis, und zwar für die Beurteilung von Ammenmilch in St. Petersburg [9], die je nach Stadium der Laktation einen unterschiedlichen Lactosegehalt aufweist. Von van Leent weiß er aber offensichtlich nichts.
- Diese Reaktion wird nun „Umikoff’sche Reaktion“ genannt und von **Nadine Sieber** genauer untersucht, ebenfalls in St. Petersburg [10].
- Ohne von Umikoff und Sieber zu wissen, probiert auch **Alfred Wöhlk** 1904 das Erhitzen von Lactose mit Ammoniak in Kopenhagen aus und entdeckt dabei, dass auch Maltose in gleicher Weise reagiert [1].

- Da die ursprüngliche Variante der Wöhlk-Reaktion nicht besonders zuverlässig ist – insbesondere wenn leicht saure Flüssigkeiten wie Milch oder Harn untersucht werden- wird sie bereits ein Jahr später (1905) von **Hans Malfatti** in Innsbruck durch Zugabe von drei bis fünf Tropfen Kalilauge verbessert [29].
- **Gautier, Morel, Krüger und Rochat** arbeiten in Frankreich und Russland ebenfalls mit Lactose und Aminen (besser Aminosäuren) und erhalten eine rote Farbe, verfolgen aber nicht die Absicht, eine Nachweisreaktion zu finden. 1934 wird von Renée Rochat auf die sehr ähnlichen Strukturen von Lactose, Maltose und Cellobiose hingewiesen; leider erlangt ihre in französischer Sprache verfasste Dissertation keinen Bekanntheitsgrad und wird erst im Jahr 2020 durch einen Zufall als Bestandteil eines Sammelbandes mit mehreren anderen Dissertationen in der Universitätsbibliothek Leipzig wiedergefunden. Bezüglich der Aminokomponente erwähnt Renée Rochat schon sehr richtig Glycin und Lysin, ebenso wird der sehr alkalische pH-Wert als notwendiges Kriterium für das Gelingen der Reaktion erkannt.
- **William Robert Fearon** ersetzt den Ammoniak 1942 in Dublin durch Methylamin-Hydrochlorid in Natronlauge und bezeichnet den Wöhlk-Test und die Umikoffsche Reaktion als „erratic and untrustworthy“ [52]. Er vermutet, dass Ammoniak nur mittelbar zur Farbbildung beiträgt; seiner Meinung nach führt ein Amin zur Farbbildung, das erst während der Reaktion gebildet wird. Deswegen verkürzt sich auch die Reaktionszeit, wenn man statt Ammoniak direkt ein Amin einsetzt. Trotz der unübersehbaren Vorteile wird Fearon’s Test vorwiegend nur im englischen Sprachgebiet ausgeführt, während im deutschen Sprachraum bis in die 1960er Jahre und teilweise auch danach die Wöhlk-Probe mit der Verbesserung von Malfatti angewendet wird [37,40].
- 1976 untersucht **Thomas Andrew Nickerson** die starke pH-Abhängigkeit der Fearon-Reaktion und beweist experimentell ein Optimum bei pH 12,7. Außerdem findet er heraus, dass der optimale Versuchsablauf bei einer Temperatur von 65 °C stattfindet. [58].

Eine systematische Untersuchung des Mechanismus der beiden sehr ähnlichen Nachweisreaktionen begann erst 2015 durch die experimentellen Arbeiten und Recherchen des Autors am IPN Kiel und am Otto Diels-Institut für Organische Chemie an der Universität Kiel. Bei dieser Gelegenheit wurden auch fehlerhafte Theorien und Missverständnisse zur Natur der roten Farbstoffe aufgedeckt [2,63].

Mit dem Diaminohexan-Verfahren (**Ruppersberg** 2019 [64]) wurde ein Ersatzverfahren entdeckt, dass in Bezug auf die Gefährdungsbeurteilung wesentlich besser abschneidet als die historische Wöhlk-Probe. Verglichen mit der Fehling-Probe und anderen Verfahren, die auf der Reduktion von Kupfer(II)-Ionen basieren, sind sowohl die Wöhlk-Probe als auch das Diaminohexan-Verfahren wesentlich aussagekräftiger, da 1,4-verknüpfte reduzierende Disaccharide (insbesondere Lactose und Maltose) von reduzierenden Monosacchariden unterschieden werden können.

Literatur

- [1] Wöhlk, A. (1904). Über eine neue Reaktion auf Milchzucker (und Maltose). Fresenius J. Anal. Chem. **43**/11, 670 - 679.
- [2] Ruppertsberg, K., Hain, J. (2016). Wie kann der Lactosegehalt von Milchprodukten im Schulexperiment sichtbar gemacht werden? CHEMKON **23**/2, 90–92.
- [3] Beckmann, J. (1786). Beyträge zur Geschichte der Erfindungen. Zweyten Bandes erstes Stück, 2. Aufl. Paul Gotthelf Kummer, Leipzig.
- [4] Herzfeld, A. (1883). Ueber Maltose. Ann. Chem. Pharm. **220**/1-2, 206–224.
- [5] Flack, H. D. (2009). Louis Pasteur's discovery of molecular chirality and spontaneous resolution in 1848, together with a complete review of his crystallographic and chemical work. Acta Cryst A **65**/5, 371–389.
- [6] Fehling, H. (1848). Quantitative Bestimmung des Zuckers im Harn. Arch phys. Heilkunde 7, 64–73.
- [7] Campani, G. (1872). Nachweisung von Trauben- und Milchzucker. Fresenius J. Anal. Chem. **11**/1, 321.
- [8] Rubner, M. (1884). Ueber die Einwirkung von Bleiacetat auf Trauben- und Milchzucker. Zeitschrift für Biologie **20**/2, 397–413.
- [9] Umikoff, N. S. (1896). Zur differentiellen Reaction der Frauen- und Kuhmilch und über die Bestimmung der Lactationsdauer in der Frauenbrust. Aus dem chemischen Laboratorium des kaiserlichen Findelhauses in St. Petersburg. Jahrbuch für Kinderheilkunde, Leipzig, 356–359.
- [10] Sieber, N. (1900). Ueber die Umikoff'sche Reaction in der Frauenmilch. Hoppe-Seyler's Zeitschrift fuer physiologische Chemie **30**/1/2.
- [11] Bruyn, C. A. L. de, van Ekenstein, W. A. (1895). Einwirkung von Alkalien auf Kohlenhydrate. Wechselseitige Umwandlung von Glucose, Fructose und Mannose in einander. Ber. Dtsch. Chem. Ges. **28**/3, 3078–3082.
- [12] van Leent, F. H. (1894). Einige Untersuchungen über Milchzucker, Galactose und Maltose und ihre Ammoniakverbindungen. Dissertation. Universität Basel, Den Haag.
- [13] Niederländisches Institut für Militärgeschichte (2017). Frederik Hendrik van Leent. Brief. Den Haag.
- [14] Maillard, L. C. (1912). Action des acides aminés sur les sucres; formation des mélanoidines par voie méthodique. C. R. Acad. Sci. 1912, 154, 66–68. Compt. Rend. Acad. Sci. **154**, 66–68.
- [15] Hayazg Enzyklopädie (2020). Умиков Нерсес Захарьевич — Энциклопедия фонда «Хайазг». Umikoff, Nersess Sacharewitsch. http://ru.hayazg.info/Умиков_Нерсес_Захарьевич.
- [16] Pawlowsky, V. (2001). Mutter ledig - Vater Staat. Das Gebär- und Findelhaus in Wien 1784 - 1910. Studien-Verl., Innsbruck.

- [17] Höffeler, F. (2009). Geschichte und Evolution der Lactose(in)toleranz. Das Erbe der frühen Viehzüchter. *Biol. Unserer Zeit* **39**/6, 378–387.
- [18] Marchetti, G. (1897). Ueber den praktischen Werth der Umikoff'schen Reaktion und das Wesen derselben. *Maly's Jahresbericht*, 266–267.
- [19] Zaribnicky, F. (1942). Zur Kenntnis der Frauenmilch. *Z. Kinder-Heilk.* **63**/4, 543–554.
- [20] Bode, L. (2012). Human milk oligosaccharides. Every baby needs a sugar mama. *Glycobiology* **22**/9, 1147–1162.
- [21] Sieber, N. (1880). Beiträge zur Kenntnis der Schimmelpilze.
- [22] Kirschbaum, E.-G. (2016). Grammatik der russischen Sprache, 1. Aufl. Cornelsen, Berlin.
- [23] Ruppertsberg, K. (2016). Dem Milchzucker auf der Spur - eine europäische Detektivgeschichte. *PdN Chemie in der Schule* **65**/8, 30–33.
- [24] Fischer, M. (2013). Lebendige Verbindungen. Biobibliographisches Lexikon der Biochemiker zwischen Deutschland und Russland im 19. Jahrhundert. Shaker Verlag, Aachen.
- [25] Creese, M. (1998). Early Women Chemists in Russia. Anna Volkova, Iuliia Lermontova and Nadezhda Ziber-Shumova. *Bull. Hist. Chem.* **21**, 19–25.
- [26] Ruppertsberg, K., Hain, J. (2017). Die Wiederentdeckung der Wöhler-Probe. *Chemie in unserer Zeit* **51**/2, 106–111.
- [27] Struckmeier, S. (2003). Naturfarbstoffe. Farben mit Geschichte. *Chem. Unserer Zeit* **37**/6, 402–409.
- [28] Fischler, F., Schlemmer, F. (1960). Anleitung zur Harnuntersuchung. J.F. Bergmann-Verlag, Munich.
- [29] Malfatti, H. (1905). Über den Nachweis von Milchzucker im Harn. *Centralblatt für die Krankheiten der Harn- und Sexualorgane*, 68–71.
- [30] United States Pharmacopeial Convention (Hrsg.) (2012). Lactose Monohydrate. o.O.
- [31] Hebbink, G., Peters, H. (2012). Measurement of Lactose from Dry Powder Inhalers in Impactors. Borculo, Niederlande.
- [32] Deutscher Apotheker Verlag (Hrsg.) (2014). Europäisches Arzneibuch 8. Amtliche deutsche Ausgabe. Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart.
- [33] Huber, H., Plankl, V. (2010). Geschichte der Medizinischen Fakultät Innsbruck und der medizinisch-chirurgischen Studienanstalt (1673 - 1938). Böhlau, Wien.
- [34] Österreichische Nationalbibliothek (1980). ANNO. Historische österreichische Zeitungen und Zeitschriften. <http://anno.onb.ac.at/cgi-content/anno-plus?aid=ztg&datum=1980&page=151>.
- [35] Österreichische HochschülerInnenschaft (Hrsg.) (2013). Österreichische Hochschulen im 20. Jahrhundert. "An alle deutschen Hochschulen". Zur Entziehung der Doktorwürde an der „Deutschen Alpen-Universität Innsbruck“, 1938–1945. facultas wuv, Wien.

- [36] Frerichs, G., Arends, G., Zörnig, H. (1938). Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis. Für Apotheker, Arzneimittelhersteller Drogisten, Ärzte und Medizinalbeamte Zweiter Band. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- [37] Siegfried GmbH (1962). Das Labor des Arztes. Säckingen.
- [38] Rauen, H. M. T., Rauen-Buchka, M. (1975). Physiologische Chemie. Begleittext zum Gegenstandskatalog für die Fächer der Ärztlichen Vorprüfung. Springer, Berlin, Heidelberg.
- [39] Hallmann, L. (1952). Klinische Chemie und Mikroskopie. Ausgewählte Untersuchungsmethoden für das medizinisch-klinische Laboratorium, 11. Aufl. Thieme, Leipzig.
- [40] Teichmann, W. (1980). Untersuchungen von Harn und Konkrementen, 2. Aufl. Volk und Gesundheit, Berlin.
- [41] Ahrens, G. (1966). Die Urinanalyse. Joh. Ambrosius Barth, Leipzig.
- [42] Nötzold, H., Raddatz, H., Hellwig, A. et al. (2018). Methodensammlung zum Praktikum Lebensmittelchemie, Teil 1. 5. Fachsemester. Erarbeitet von der Professur für Lebensmittelchemie. Dresden.
- [43] Proske, W., Walter, F. (2013). Reagenzglasversuche zur Chemie der Kohlenhydrate. Skript zum Vortrag auf der MNU-Tagung Bremerhaven 2013. Bremerhaven.
- [44] Hodge, J. E. (1953). Dehydrated Foods, Chemistry of Browning Reactions in Model Systems. J. Agric. Food Chem. **1**/15, 928–943.
- [45] Gautier, C., Morel, A. (1906). Sur une réaction colorée du lait. Comptes rendus des séances de la Société de biologie et de ses filiales **LX**, 376.
- [46] Bibliothèque nationale de France (2020). Albert Morel (1875-1953) - Auteur - Ressources de la Bibliothèque nationale de France. https://data.bnf.fr/fr/13447437/albert_morel/ (letzter Zugriff am 30.11.2020).
- [47] Gautier, C. (1910). Recherches sur le chromogène urinaire et la couleur d'origine skatolique. Thèse. Lyon, Université de Lyon.
- [48] Krüger, F. (1907). Ueber eine eigentümliche Veränderung der Milch durch Natron- resp. Kalilauge. Zeitschrift für physiologische Chemie **50**, 293–302.
- [49] Universitätsbibliothek Rostock (2020). Krüger, Friedrich Karl von - Catalogus Professorum Rostochiensium. <http://purl.uni-rostock.de/cpr/00003464> (letzter Zugriff am 20.8.2020).
- [50] Krüger, F. (1898). Kurzes Lehrbuch der medicinischen Chemie. Mit Einschluss der medicinisch-chemischen Methodik. Deuticke, Leipzig.
- [51] Rochat, R. (1934). Contribution à l'étude d'une des Réactions des alpha-Amino-Acides sur les Glucides. Coloration rouge vif que prend le lait additionné de soude caustique concentrée (Réaction de A. Morel et Cl. Gautier). Bosc Frères, Lyon.

- [52] Fearon, W. R. (1942). The detection of lactose and maltose by means of methylamine. *The analyst* **67**/793, 130–132.
- [53] Ochei, J., Kolhatkar, A. (2000). *Medical Laboratory Science: Theory And Practice*. Tata McGraw-Hill Publishing, New Delhi.
- [54] House of Oireachtas (2020). William Robert Fearon – Houses of the Oireachtas.
<https://www.oireachtas.ie/en/members/member/William-Robert-Fearon.S.1943-08-09/>.
- [55] *British Medical Journal* (1960). Obituary. W. R. Fearon, M.B., Sc.D. *BMJ* **1**/5167, 205.
- [56] Jessop, W. J. E. (1961). *Fearon's Introduction to Biochemistry*, 4. Aufl. Elsevier Science, Burlington.
- [57] University of California (1979). In Memoriam Thomas Andrew Nickerson.
http://texts.cdlib.org/view?docId=hb4q2nb2px&chunk.id=div00032&brand=calisphere&doc.view=entire_text.
- [58] Nickerson, T. A., Vujicic, I. F., Lin, A. Y. (1976). Colorimetric Estimation of Lactose and Its Hydrolytic Products. *Journal of Dairy Science* **59**/3, 386–390.
- [59] Strecker, A. (1862). Notiz über eine eigenthümliche Oxydation durch Alloxan. *Ann. Chem. Pharm.* **123**/3, 363–365.
- [60] Schönberg, A., Moubacher, R. (1952). The Strecker Degradation of α -Amino Acids. *Chem. Rev.* **50**/2, 261–277.
- [61] Verband der Chemischen Industrie e.V. (o.J.). Textilchemie-Versuche.
FCI_Textil_Versuche_131206_RZ. <https://www.vci.de/vci/downloads-vci/textilchemie-versuche.pdf> (letzter Zugriff am 5.4.2019).
- [62] Ruppertsberg, K., Klemeyer, H. (2020). Lactose-Schnelltest: Wie kann man in 60 Sekunden Milchzucker nachweisen? *CHEMKON* **27**/4, 199–202.
- [63] Ruppertsberg, K., Hain, J., Mischnick, P. (2017). Auf der Spur der roten Farbe. Ein historischer Lactose-Nachweis wiederentdeckt. *CHEMKON* **24**/4, 302–308.
- [64] Ruppertsberg, Klaus: Nachweis von Lactose (und Maltose) im Kontext Schule. Wöhlk-Probe, Fearon-Test und 1,6-Diaminohexan-Verfahren im kontextorientierten experimentellen Chemieunterricht: Aminbasierte Farbreaktionen als Kohlenhydratnachweise. Flensburg: Zentrale Hochschulbibliothek Flensburg 2021, XVII, 254 S. - (Dissertation, Europa-Universität Flensburg, 2021) - URN: urn:nbn:de:0111-pedocs-284466 - DOI: 10.25656/01:28446

Der Autor:



Klaus Ruppertsberg (Jahrgang 1959) war 24 Jahre lang Chemie- und Biologielehrer an verschiedenen Schultypen.

Von 2014 bis 2021 war er abgeordnete Lehrkraft am IPN Kiel (Abt. Ilka Parchmann), von 2020 bis 2021 war er Lehrbeauftragter für experimentelle Schulchemie an der EUF Flensburg (Abt. Maike Busker).

Sein Interesse gilt vor allem anschaulichen, sicheren und aussagekräftigen Experimenten im Unterricht, insbesondere der Wöhlk-Probe und dem Diaminohexan-Verfahren, sowie der Geschichte der Chemie.

Seine Spätdissertation mit dem Titel „Nachweis von Lactose (und Maltose) im Kontext Schule. Wöhlk-Probe, Fearon-Test und 1,6-Diaminohexan-Verfahren im kontextorientierten experimentellen Chemieunterricht: Aminbasierte Farbreaktionen als Kohlenhydratnachweise“ hat er 2021 erfolgreich abgeschlossen.