

Wenn 5 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit 0,5–1 mg Glykuronsäure enthalten, dann ist in einem Reagenzglas von 13 mm lichter Weite die untere Grenze der Sichtbarkeit der Reaktion sowohl der Farbe der Ätherschicht, als auch des Absorptionstreifens erreicht.

Ausführung.

Die erste orientierende Probe stellt man mit 5 ccm Urin, 0,5 ccm der 1%igen alkoholischen Naphthoresorcinlösung, 5 ccm Salzsäure vom spezifischen Gewichte 1,190 in einem Reagenzglas von 13 mm lichter Weite an. Man kocht genau 1 Minute und läßt 4 Minuten absetzen. Gründliches Abkühlen unter fließendem Wasser, Ausschütteln mit 10 ccm Äther, 1 Minute stehen lassen, dann Hinzufügen von 0,5 ccm Alkohol! Fällt die Reaktion mit 5 ccm Urin stark positiv aus, nimmt man zur nächsten Reaktion 3 ccm Urin, 2 ccm Wasser, sonst dasselbe; dann 2 ccm Urin, 3 ccm Wasser; schließlich 1 ccm Urin, 4 ccm Wasser und sofort, bis die Reaktion eben noch positiv ist. Die zuletzt verwandte Urinmenge enthält dann etwa 0,5–1 mg Glykuronsäure.

Beurteilung.

Die kolorimetrische Bestimmung ist zur schnellen Orientierung über den ungefähren Glykuronsäuregehalt eines Urins nach den gefundenen Vergleichszahlen nicht ungeeignet; genaue Resultate sind natürlich mit dieser Probe nicht zu erwarten.

Eigenschaften der Glykuronsäure.

Die reine, einbasische Glykuronsäure bildet einen in Wasser und Alkohol löslichen Sirup und gibt gut krystallisierende Alkalisalze, sie dreht rechts (8–14%ige Lösung des Lactons $[\alpha]_D^{20} = +19,25^\circ$ bei 18° , mit der Verdünnung und bei erhöhter Temperatur nimmt die Drehung zu) und geht beim Kochen mit Wasser in das Lactonglykuron über, das in farblosen, bei 175 – 178° schmelzenden Tafeln krystallisiert; mit Hefe gärt sie nicht. Glykuronsäure bildet mit Barythydrat ein schwerlösliches Salz, durch Bleiessig, nicht durch Bleizucker, wird sie als basisches Salz gefällt. Gegen Fehlingsche Lösung ist das Reduktionsvermögen des Anhydrids ebenso groß, wie das der Dextrose. Alkalische Kupfer- und Wismutoxydlösungen werden, da die Glykuronsäure eine Aldehydgruppe enthält, reduziert. Beim Erhitzen mit Salzsäure zerfällt sie und bildet reichlich Furfurol. Mit Phenylhydrazin gibt die Glykuronsäure (auch schon einzelne gepaarte, z. B. die Terpen-, Menthoglykuronsäure) Verbindungen, die zum Teil in Zusammensetzung und Schmelzpunkt mit denen des Glykosazons und Pentosazons übereinstimmen (Mayer und Neuberg) und für die Erkennung der Glykuronsäure keine Verwertung finden können. Das Osazon hat einen Schmelzpunkt von 160° . Charakteristisch ist die p-Bromphenylhydrazinverbindung (S. 249), die sich von p-Bromphenylosazon der Kohlenhydrate durch ihre Unlöslichkeit in Alkohol und ihr oben erwähntes polarimetrisches Verhalten unterscheidet.

23. Die Kohlenhydrate. (Kohlehydrate.)

Unter Kohlenhydraten verstehen wir im Pflanzenreiche, in geringer Menge im Tierreiche, vorkommende stickstofffreie Körper, die neben dem Kohlenstoff Wasserstoff und Sauerstoff in dem Verhältnisse enthalten, in dem diese Wasser bilden.

Die Kohlenhydrate kann man unter Berücksichtigung der im Harn vorkommenden und bis jetzt bekannten in folgende Gruppen trennen:

- I. Pentosen. $C_5H_{10}O_5$.
- II. Hexosen. $C_6H_{12}O_6$.
 - A. Monosaccharide, Monohexosen, Aldohexosen, Aldosen, Oxyaldehyde (Glykose oder Dextrose), Kethexosen, Oxyketone (Lävulose oder Fruktose).
 - B. Disaccharide, Hexobiosen, Biosen (Rohrzucker, Milchsucker, Maltose, Isomaltose).
 - C. Polysaccharide ($C_6H_{10}O_5$)_n (tierisches Gummi, Harndextrin, Glykogen).

Auch unter normalen Verhältnissen enthält jeder Harn kleine Mengen von Kohlenhydraten; nach den Ergebnissen der eingehend und sorgfältig vorgenommenen Untersuchungen sind im normalen Harn Spuren von Traubenzucker nachweisbar. Nach Th. Lohnstein, H. Laveson, Schoendorff sind etwa 0,02% als der mittlere Traubenzuckergehalt des normalen Harnes anzusprechen. Die Menge der Gesamtkohlenhydrate im normalen Harn wurde von v. Udranszky zu 0,075–0,35%, von Luther zu 0,23% im Mittel bestimmt und als Traubenzucker in Rechnung gesetzt, wovon aber nur 0,09% vergären. Nicht zu vergessen sind die im normalen Harn vorkommenden Glykoproteide, Verbindungen der Eiweißkörper mit Substanzen der Kohlenhydratgruppe, das Mucin, die Mucoide, die beim Behandeln mit Säuren sich spalten. Ebenso kann Pentose im normalen Harn vorkommen. Unter gewissen Verhältnissen — pathologischen — können andere Zuckerarten im Harn gefunden werden, wie Milchsucker, Glykogen. Nach K. Baisch und A. Lemaire¹⁾ findet sich außer Spuren von Glykose und von Harndextrin (tierischem Gummi) ein drittes Kohlenhydrat, das durch seine Nichtvergärbarkeit mit Hefe, seine Krystallform, durch den Schmelzpunkt seines Osazons usw. jedenfalls identisch mit Isomaltose ist, die auch v. Althaus gefunden haben will. Eine Heptose will Rosenberg²⁾ im Harn einer Kranken beobachtet haben.

Zum Nachweise der Kohlenhydrate kann man sich der allgemeinen Kohlenhydratreaktionen bedienen. Die den einzelnen Kohlenhydraten zukommenden Reaktionen und Eigenschaften sind bei diesen angegeben.

1. Beim Schütteln von Harn mit Benzoylchlorid und Natronlauge entsteht ein Niederschlag in Gestalt eines schwach gelblichen Pulvers, das sehr schön die Furfurolreaktion gibt. Zur Herstellung des Benzoessäureesters versetzt man den Harn mit etwas Natronlauge und läßt zur Abscheidung der Phosphate der Erdalkalien über Nacht stehen; das Harnfiltrat verdünnt man auf das 3–4fache mit Wasser und setzt nun auf 100 ccm ursprünglichen Harnes mindestens 5 ccm, besser 10 ccm reines Benzoylchlorid und 40–50 ccm (nach Versuchen von B. Reinbold 120 ccm) einer 10%igen Natronlauge hinzu, worauf man kräftig schüttelt (1 Stunde lang), bis der Geruch

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1896. 22. 450.

²⁾ Ebenda. 1906. 49. 202.

nach Benzoylchlorid nicht mehr wahrnehmbar ist. Man sammelt den abgeschiedenen Benzoessäureester auf einem Filter, wäscht den Niederschlag mit Wasser bis zur neutralen Reaktion und trocknet ihn über Schwefelsäure. (J. Baum¹⁾, E. Baumann²⁾, K. Baisch³⁾, F. A. Lemaire⁴⁾, E. Wedenski⁵⁾, E. Salkowski⁶⁾, B. Reinbold⁷⁾ u. a.

Die erhaltene Substanz ist natürlich nicht rein; durch Anskochen mit Wasser, durch Verreiben mit 20%iger Salzsäure, Umkrystallisieren in Alkohol kann man das Gemisch etwas reinigen. Auch aus normalem Harn erhält man Benzoyl ester. Der Schmelzpunkt zwischen 60—125° zeigt, wie unrein die Ester sind. Nach den Versuchen verschiedener Forscher läßt sich die Isolierung der Kohlenhydrate vollständiger erreichen, wenn man das Benzoylieren nicht auf einmal, sondern portionsweise vornimmt; man setzt daher zweckmäßig das Gemisch — Benzoylchlorid, Natronlauge — vielleicht in 4—5 Partien (immer 2,5 oder 2 ccm Benzoylchlorid, 30 oder 24 ccm Natronlauge) hinzu. Noch günstiger soll kohlen saures Natrium statt Lauge wirken. Wenn man eine schmierige Masse, kein gelbliches krümeliges Pulver erhält, dann war die verwendete Lauge nicht ausreichend oder das Benzoylchlorid hat nicht lange genug eingewirkt.

Die Reindarstellung der Zuckerarten ist eine schwierige. Nach Baumann hätte die Benzoylierung als qualitative Reaktion insofern eine Bedeutung, als noch 1—2 mg Glykose in 100 ccm Wasser gelöst bei der Behandlung mit Natronlauge und mit 2 ccm Benzoylchlorid einen bemerkbaren flockigen Niederschlag gäbe.

2. Furfurolreaktion.

Werden Kohlenhydrate (Zucker usw.) mit Schwefelsäure vermischt, so bildet sich Furfurol, das durch α -Naphthol (Thymol oder Xylidin) nachgewiesen werden kann. Man wendet am besten die von H. Molisch⁸⁾-L. v. Udránszky⁹⁾ empfohlene Methode an.

Der eiweißfreie, auch mucinfreie Harn wird auf das Zehnfache mit Wasser verdünnt. Man versetzt 0,5 ccm des Harnes mit einem Tropfen einer 10%igen Lösung von reinem α -Naphthol in reinem Alkohol (auch acetonfreiem Methylalkohol oder Amylalkohol), schüttelt um, läßt dann vorsichtig unter das Gemisch genau 1 ccm reiner, von Salpetersäure und salpetriger Säure freier konzentrierter Schwefelsäure fließen und schüttelt unter Abkühlen um. Es tritt eine violette bis himbeerrote Färbung ein; beim Verdünnen mit ganz reinem destilliertem Wasser entsteht ein blauvioletter oder tiefblauer Niederschlag, in Alkohol und Äther mit gelblicher Farbe löslich. Thymol gibt unter gleichen Verhältnissen eine ähnliche Färbung; beim Verdünnen mit Wasser wird die Flüssigkeit carminrot.

Man kann auch die Schwefelsäure unterschichten und nicht umschütteln. An der Berührungsstelle entsteht ein violetter Ring. Neitzel verwendet Campher statt α -Naphthol.

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1885. **9**. 465.

²⁾ Berl. Bericht. 1886. **19**. 3220.

³⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1894. **18**. 193.

⁴⁾ Ebenda. 1896. **21**. 442.

⁵⁾ Ebenda. 1889. **13**. 122.

⁶⁾ Ebenda. 1893. **17**. 243.

⁷⁾ Archiv Physiol. 1902. **91**. 54.

⁸⁾ Wien. Monatsheft. 1886. **7**. 198.

⁹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1888. **12**. 358. 386.

Beurteilung.

Auch andere Harnbestandteile können die Reaktion geben.

E. Luther¹⁾, B. Reinhold²⁾ besprechen eingehend diese Reaktion. Nach v. Udránsky soll ein Harn wenigstens 0,5% d-Glykose enthalten, wenn ein Tropfen des auf das Zehnfache verdünnten Harnes noch die α -Naphtholprobe gibt. Tritt hierbei keine positive Reaktion ein, so wäre in dem Harn Traubenzucker in pathologischer Menge nicht vorhanden.

3. Normaler Harn reduziert Fehlingsche und Knappsche Lösung; das Reduktionsvermögen des Harnes kann, auf Traubenzucker bezogen, soviel betragen, als einer Traubenzuckerlösung von 0,08—0,4% entspricht. An der Reduktion beteiligen sich Harnsäure, Kreatinin, gepaarte Glykuronsäuren, Stoffe, die natürlich mit den Kohlenhydraten nichts zu tun haben.

Nach Laveson rühren von der Gesamtreduktion 17,8% vom Zucker, 26,3% vom Kreatinin, 7,8% von der Harnsäure und der Rest, nahezu 50%, von meistens unbekannten Substanzen her.

Zur annähernden Bestimmung der Gesamtkohlenhydrate im Harn kann man sich nach v. Udránszky der angegebenen Furfurolreaktion im Vergleiche mit einer Traubenzuckerlösung von bestimmtem Gehalte bedienen; die Bestimmung ist eine colorimetrische.

Gewinnung und Isolierung.

Die, wie oben angegeben, gewonnenen Benzoesäureester werden mit Natriumäthylat verseift. Will man größere Mengen Ester gewinnen, so verwendet man 10 Liter Harn, außerdem kommt man auch mit einem Liter Harn zum Ziele. N. Wedenski, K. Baisch und F. A. Lemaire haben die ursprünglich von Baumann angegebene Darstellungsweise vervollkommenet. Natriumäthylat wurde aus dem Grunde zur Verseifung gewählt, da die ursprünglich angewandte Natronlauge Zucker leicht zerstören kann. Auf 10 g Ester (aus 10 Liter Harn gewonnen) werden 7,5 g metallisches Natrium, die in 300 ccm abgekühlten absoluten Alkohols eingetragen werden, verwendet; bei Anwendung von 1 g Ester werden selbstverständlich nur 0,7 g Natrium und 30 ccm Alkohol zur Verseifung genommen. In diese Lösung wird unter beständigem Umschütteln und Abkühlen (auf -5°) des Gefäßes in einer Kältemischung (nach Lemaire genügt Kühlen unter der Wasserleitung) der fein zerriebene Ester in Substanz eingebracht; die Verseifung ist nach 20—40 Minuten beendet; das Ende der Verseifung wird daran erkannt, daß eine herausgenommene Probe mit dem 3—4fachen Volumen Wasser (mit mehr Wasser tritt Trübung ein) sich nicht mehr trübt. Nun wird sofort so viel verdünnte Schwefelsäure zugesetzt, als zur Überführung des verwendeten Natriums in primäres Sulfat nötig ist.

Die Flüssigkeit wird zur Entfernung der Benzoesäure dreimal mit der gleichen Menge Äther (tritt Emulsion ein, so hilft man sich mit Alkoholzusatz), die Ätherlösung wieder mit Wasser geschüttelt, um in wasserhaltigen Äther

¹⁾ Freiburg. Dissertat. Berlin 1890. 38.

²⁾ Pflügers Archiv 1904. 103. 581.

Spaeth, Untersuchung des Harnes. 5. Aufl.

übergegangene Kohlenhydrate wieder zu entfernen, und die wässrige Lösung zur Flüssigkeit im Scheidetrichter gegeben.

Die weingeistige wässrige Lösung wird mit Natronlauge nahezu neutralisiert, — noch schwach saure Reaktion — mit dem 2—3fachen Volumen Alkohol versetzt und über Nacht stehen gelassen. Die vom Natriumsulfat abfiltrierte Flüssigkeit wird bei ganz schwach saurer Reaktion auf dem Wasserbade zur Entfernung des Alkohols konzentriert, die konzentrierte Flüssigkeit nochmals mit dem 3—4fachen Volumen Alkohol versetzt, filtriert und das Filtrat vorsichtig eingedampft. Die ziemlich braungefärbte Lösung behandelt man mit neutralem, dann mit basischem Bleiacetat, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff, entfernt diesen durch Durchleiten von Kohlensäure und filtriert ab. Die auf 100 ccm gebrachte filtrierte Lösung polarisiert man; sie dreht rechts. Zu dieser Lösung fügt man eine filtrierte Mischung von 7,0 g Phenylhydrazin, 20,0 g 25%iger Natriumacetatlösung, 50,0 g Essigsäure und erhitzt das Ganze auf dem Wasserbade. In der Siedehitze scheidet sich ein in großen Pfeilbündeln oder Kornähren ähnlichen Figuren krystallisierendes Osazon aus, dessen Schmelzpunkt nach Reinigung der Substanz durch wiederholte Lösung in Alkohol und Fällung mit Wasser bei 203—204° gefunden wird. Durch diese Reaktion wird das Vorkommen von geringen Traubenzuckermengen auch im normalen Harn bewiesen. In dem Benzoylniederschlag und in der Lösung der freien Kohlenhydrate fanden die genannten Forscher noch weitere Kohlenhydrate, Isomaltose und eine dextrinartige Substanz (Harndextrin, tierisches Gummi).

Allgemeine Eigenschaften der Kohlenhydrate.

Die Kohlenhydrate zeigen infolge ihrer Aldehyd- und Carbonylgruppen reduzierende Eigenschaft, geben mit Benzoylchlorid Ester, mit verdünnten Mineralsäuren erwärmt gewisse Verbindungen (Furfurol bei den Pentosen, Lävulinsäure bei den Hexosen). Charakteristisch sind die mit α -Naphthol, Thymol usw. und Schwefelsäure entstehenden Farbenreaktionen aus dem gebildeten Furfurol.

Die Aldosen (Aldehydderivate) vereinigen sich in starker Salzsäure mit mehratomigen aromatischen Alkoholen (Resorcin, Pyrogallol) zu Verbindungen, die mit Oxydationsmitteln (Metalloxyden in alkalischer Lösung, Fehlingscher Lösung, Quecksilberlösung) schöne rote Färbungen geben. Aus einer Lösung einer Aldose in Alkohol und einer Mineralsäure bildet sich beim schwachen Erwärmen eine ätherartige Verbindung, ein Glykosid.

Mit Phenylhydrazin geben alle Zuckerarten charakteristische Verbindungen (Osazone).

Die einfachen Zucker können Glykosamin, Amidoglykosin $C_6H_{11}O_5 \cdot NH_2$, bilden, das auch aus der Chondroitinschwefelsäure, einem in Wasser löslichen stickstofffreien Kohlenhydratabkömmling, gewonnen wird, indem durch Kochen mit verdünnten Mineralsäuren aus dem Chondroitin Chondrosin entsteht, das durch Kochen mit Barythydrat Glykuronsäure und Glykosamin

bildet. Aus den Zuckerarten entsteht dieses Glykosamin, wenn man die betreffenden Osazone direkt mit reduzierenden Substanzen behandelt. Durch salpetrige Säure läßt sich der Zucker aus den Osazonen wieder regenerieren. Verschieden ist ihr optisches Verhalten, indem ein Teil die Ebene des polarisierten Lichtstrahles nach rechts (Dextrose, Milchzucker, Maltose), ein anderer Teil nach links (Lävulose) ablenkt.

Endlich besitzen Dextrose und Lävulose noch die Eigenschaft, mit Hefe zu gären.

A. Pentosen, Pentaglykosen $C_5H_{10}O_5$.

Eine von E. Salkowski und M. Jastrowitz¹⁾ im Jahre 1892 im Menschenharn bei einem Morphinisten beobachtete neue Zuckerart hat sich bei weiterer Untersuchung als eine Pentose erwiesen. Nach E. Külz, J. Vogel sind Pentosen im Harn von Diabetikern schwerer Form gerade kein seltenes Vorkommen, wenn auch nur geringe Mengen zu konstatieren sind und die Ausscheidung dieser Pentosen mit dem Diabetes nachweislich nicht in genetischem Zusammenhange steht, sondern eine rein zufällige sein wird. F. Blumenthal fand sie fast niemals im diabetischen Harn, auch nicht bei schwerem Diabetiker.

Ob eine Pentosurie mit Diabetes verbunden als besondere Form der Pentosurie anzusehen ist, ist noch nicht sicher bewiesen. Man muß daran denken, daß Verwechslungen mit Glykuronsäure vorkommen konnten.

Normale Harnen geben oft Pentosenreaktionen; der Genuß von Kirschen, gedörrten Pflaumen, Heidelbeeren und Früchten, die fünfwertigen Zucker oder deren Muttersubstanzen (Pektinstoffe, Pflanzengummi, die sog. Pentosane) enthalten, veranlaßt den Übergang einer geringen Menge Pentosen in den Harn. Man spricht hier von einer alimentären Pentosurie. Pentosane, Pentosen werden im Körper nur unvollständig verbrannt, sie gehen viel leichter als andere Substanzen in den Harn über. Die im Harn dann zu beobachtende Pentose ist aber die rechtsdrehende l-Arabinose. Auch nach gewissen Medikamenten (Camphor, Chloralhydrat, Tannin, nach Spülen des Mundes mit Myrrhentinktur), gewissen modernen Getränken (Apfelsaft) kann Pentosurie auftreten (Rosenberg). Johnstone hat gefunden, daß fast bei jedem Menschen nach dem Genuß von Fruchtsäften sich Pentosen im Urin nachweisen lassen, und zwar noch 5—6 Tage nach dem Aufhören dieser Ursache. Dasselbe berichtet v. Jaksch. Bei der eigentlichen, echten, chronischen Pentosurie, die wohl selten vorkommt, ist aber nach C. Neubergs²⁾ Untersuchungen die völlig inaktive racemische Arabinose zu finden; af Klercker meint, daß wahrscheinlich l-Ribose vorkäme. Die Menge kann nach den gemachten Angaben 0,08—1 % betragen. Über die Ursache des Vorkommens der letzteren Pentose haben sich die An-

¹⁾ Zentralbl. med. Wissenschaft. 1892. 337. 593; Zeitschr. physiol. Chem. 1901. 27. 507.

²⁾ Berl. Bericht. 1900. 33. 2243.

sichten gegen früher besonders durch die Forschungen C. Neubergs¹⁾ etwas geändert und geklärt, wenn auch der Ursprung der Harnpentose hier mit Sicherheit noch nicht sicher gestellt ist.

Es ist wohl bekannt, daß Pentosen bei der Zersetzung der Nucleoglykoproteide des Pankreas entstehen, aber durch die Arbeiten Neubergs ist nachgewiesen, daß es sich in diesem Falle um die rechtsdrehende l-Xylose und nicht um die bei der eigentlichen Pentosurie vorkommende, optisch inaktive Form handelt. Diese l-Xylose wird im Harn nicht gefunden. Nach Bials und Blumenthals Untersuchungen dürfte die Pentose weder aus den Hexosen, noch aus den Glykuronsäuren stammen, vielmehr dürfte die bei der chronischen Pentosurie vorhandene Pentose nach C. Neuberg aus Galaktose, die aus den Kohlenhydraten neben Glykose und Fruktose im Magendarmkanal entsteht, gebildet werden. Nach Einnehmen von Galaktose fand R. Luzatto die Pentosen vermehrt. F. Blumenthal und C. Neuberg nehmen eine synthetische Entstehung der inaktiven Arabinose im Organismus an.

Mit dem echten Diabetes hat die Pentosurie nichts zu tun (Blumenthal).

Die Pentosurie wurde zuerst von v. Jaksch als besondere Krankheit erkannt; doch kann man das Vorkommen von Pentosen kaum als Krankheit ansehen; die Pentosurie ist jedenfalls eine harmlose Stoffwechselerkrankung. Oft ist eine familiäre Disposition festgestellt worden. Man hüte sich, eine harmlose Pentosurie mit Glykosurie zu verwechseln!

Nachweis.

1. Allgemeines.

Pentosehaltige Harn zeigen die Trommersche, Fehlingsche Probe nach einiger Zeit (erst nach dem Kochen oder nach dem Erkalten, dann aber plötzlich, sprunghaft, sie zeigen die Erscheinung der Nachreduktion), Wismutlösung wird reduziert, die Gärung verläuft negativ — bei gleichzeitiger Gegenwart von Glukose können kleine Pentosenmengen mit vergären —, die Phenylhydrazinprobe zeigt sich erst beim Abkühlen positiv, die Ebene des polarisierten Lichtes wird nicht beeinflusst. Die bei der alimentären Pentosurie vorhandene Arabinose dreht rechts. Doch sind diese allgemeinen Reaktionen nicht stichhaltig, wenn auch Dextrose vorhanden ist.

Nach E. Kraft²⁾ sollen Pentose und Dextrose in einem und demselben Harn nicht gleichzeitig oder nur äußerst selten vorkommen.

Von einigen Seiten wird Wert darauf gelegt, daß die Phenylhydrazinprobe in Pentosenharnen im Verhältnis zu den Reduktionsproben stark eintritt und daß somit dieses Mißverhältnis zwischen Reduktion und Phenylhydrazinprobe als kennzeichnend für Pentosenharn anzusehen ist.

¹⁾ Berl. Bericht. 1902. 35. 1467.

²⁾ Apoth.-Ztg. 1906. 21. 611.

2. Die B. Tollens¹⁾-E. Salkowskische²⁾ Reaktion.

Man löst etwas Phloroglucin (eine kleine Messerspitze voll) unter Erwärmen in 5—6 ccm rauchender Salzsäure vom spez. Gewicht 1,12, so daß ein kleiner Überschuß ungelöst bleibt, teilt in zwei annähernd gleiche Teile und setzt nach dem Erkalten der Säure der einen Hälfte $\frac{1}{2}$ ccm des zu prüfenden Harnes, der anderen ebensoviel eines ungefähr gleichkonzentrierten normalen Harnes zu, nachdem man die Harnen zweckmäßig mit etwas Tierkohle — nach J. Bang mit Alkohol und Blutkohle Merck — entfärbt hat. Taucht man beide Proben in ein Becherglas mit siedendem Wasser, so zeigt der pentosehaltige Harn in wenigen Augenblicken einen intensiv roten oberen Saum, von dem sich die Färbung allmählich nach unten ausbreitet, während der normale Harn seine Farbe nicht merklich oder nur unbedeutend verändert.

Der pentosehaltige Harn zeigt dann, sofort nach dem Eintreten der Reaktion spektroskopisch untersucht, einen Absorptionsstreifen zwischen *D* und *E*, rechts von der Na-Linie; ist diese Untersuchung wegen der trüben Beschaffenheit nicht möglich, dann schüttelt man den Farbstoff mit reinem Amylalkohol aus dem kalt gewordenen Gemische aus und spektroskopiert (Salkowski). B. Tollens³⁾ läßt den Harn mit gleichem Volumen konz. Salzsäure (D. 1,19) und etwa 0,03 g Phloroglucin nach dem Aufkochen beiseite stellen, abkühlen und den Niederschlag auf einem Filter sammeln. Nach dem Waschen mit Wasser wird der Niederschlag mit 95%igem Alkohol behandelt und die Lösung gegebenenfalls nach weiterer Verdünnung mit Alkohol im Spektroskop betrachtet.

Beurteilung.

Glykuronsäurehaltige oder diabetische Harnen zeigen zwar auch den Streifen, aber eine mehr braunschwarze Färbung; bei Galaktose fehlt der Absorptionsstreifen. Die Probe ist nicht einwandfrei, da sie bei den meisten normalen Harnen auch positiv ausfallen kann.

Das Deutsche Arzneibuch V. läßt 10 ccm Harn mit dem gleichen Volumen Salzsäure (1,19) und mit etwa 0,03 g Phloroglucin erwärmen.

3. Die Orcinreaktion nach E. W. Allen-B. Tollens⁴⁾ mit den Modifikationen von Salkowski⁵⁾-Blumenthal.⁶⁾

3 ccm Harn werden mit 5 ccm Salzsäure (1,19 spez. Gew.) und einer Messerspitze (0,5 g) voll Orcin zum Sieden erhitzt. (Vorsicht, die Flüssigkeit stößt!) Nach vorübergehender Rot- oder Violett-färbung färbt sich die Lösung schön dunkelgrün und es entsteht ein für die Anwesenheit von Pentosen absolut beweisender grün-blauer Niederschlag. Schüttelt man den noch lauwarmen Inhalt

¹⁾ Berl. Bericht. 1896. 29. 1204.

²⁾ Centralbl. med. Wissensch. 1892. 337; Zeitschr. physiol. Chem. 1899. 27. 507.

³⁾ Neubauer-Huppert, Analys. d. Harnes. 11. Aufl. C.W. Kreidel, Wiesbaden 1910.

⁴⁾ Annal. Chem. Pharm. 1890. 260. 305.

⁵⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1899. 27. 514.

⁶⁾ Zeitschr. klin. Mediz. 1899. 37. 420.

des Röhrchens mit Amylalkohol, so nimmt dieser den Farbstoff mit schön smaragdgrüner Farbe auf und zeigt im Spektrum zwischen C und D einen Absorptionsstreifen; am Anfange des Rot ist häufig ein zweiter Streifen zu sehen.

Beurteilung.

Diese Reaktion ist etwas eindeutiger; glykuronsäurehaltige Harnen zeigen den Streifen, geben aber violette Färbung, die in Amylalkohol übergeht. Wichtig ist das Verhalten im Spektroskop. Man muß genau die angegebene Salzsäuremenge nehmen, sonst tritt die Grünfärbung nicht ein; auch erhitzt man nicht zu lange, nur kurz, um gepaarte Glykuronsäuren durch zu langes Kochen nicht zu sprengen.

4. Die M. Bialsche¹⁾ Probe.

Erforderliches Reagens.

1 g Orcin Merck wird in 500 ccm 30%iger Salzsäure gelöst; hiezu werden 20–30 Tropfen 10%iger Eisenchloridlösung zugesetzt.

Das Reagens ist in gelben Glasstöpselflaschen aufbewahrt lange haltbar.

Ausführung.

Man erwärmt 3–5 ccm Harn mit 6–10 ccm des Reagens bis zum beginnenden Sieden; es entsteht eine grünblaue bis smaragdgrüne Färbung, die bald dunkelgrün wird; weitere Behandlung mit Amylalkohol, wie angegeben.

Am besten verfährt man aber nach E. Kraft²⁾, indem man vom Reagens (nach Kraft 1 g Orcin Merck in 500 ccm Salzsäure vom spez. Gewicht 1,151, 25 Tropfen officinelle Eisenchloridlösung) 5 ccm einmal kräftig aufkocht, das Glas von der Flamme entfernt und sofort 5 Tropfen vom Harn zusetzt.

Es entsteht dann fast sogleich ein prachtvoller tiefgrüner Ring in der oberen Zone des Harnes, der sich rasch nach unten verdickt.

Das Deutsche Arzneibuch V schreibt vor, 5 ccm Bialsche Lösung und 2 ccm Harn im Reagenzglas, das mit Wattebausch versehen wird, im Wasserbade bis fast zum Sieden zu erhitzen; man nimmt das Glas dann heraus und läßt erkalten.

Beurteilung.

In dieser nur kurze Zeit beanspruchenden Ausführung ist die Orcinreaktion sehr empfindlich; eine Spaltung der gepaarten Glykuronsäuren soll vermieden werden. Durch Amylalkohol kann der grüne Farbstoff ausgeschüttelt werden, das Spektrum zeigt einen Absorptionsstreifen zwischen C und D. Die Lösung muß genau hergestellt sein; man hüte sich vor einem zu großen Eisenzusatz.

5. A. Neumann verwendet Eisessig und Schwefelsäure. Siehe Seite 288.

6. Ausführung der Probe nach A. Jolles³⁾ nach der Abänderung.

Bei Harnen mit bis zu 5% Dextrosegehalt werden 100 ccm mit 4 g salzsaurem Phenylhydrazin und 8 g Natriumacetat eine Stunde im siedenden Wasserbade erwärmt; nach dem Abkühlen wird der auf einem Asbestfilterchen gesammelte und mit kaltem Wasser gewaschene Niederschlag mit 15 ccm heißen Wassers versetzt und das Kölbchen 5 Minuten lang in ein siedend heißes Wasserbad gestellt; dann wird rasch filtriert. Das Filtrat wird nach Zusatz von 6 ccm Salzsäure (D = 1,19) in einem sog. Rektifizierkölbchen mit einem kleinen Kühler verbunden destilliert.

¹⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1902. 28. 253; 1903. 29. 477.

²⁾ Apoth.-Ztg. 1906. 21. 611.

³⁾ Biochem. Zeitschr. 1906. 2. 244; Zentralbl. f. innere Mediz. 1907. 28. 415; 1912. 33. 1; Zeitschr. analyt. Chem. 1913. 52. 105.

3 ccm des Destillates sollen mit 5 ccm des Bialschen Reagens versetzt bei Gegenwart von 0,05% Pentosen deutliche Grünfärbung geben. Bei Harn mit einem Dextrosegehalt über 5% werden auf 100 ccm die doppelten Mengen Phenylhydrazin und Natriumacetat verwendet.

Beurteilung.

Der Vorzug dieses allerdings längere Zeit in Anspruch nehmenden Verfahrens soll nach Jolles darin bestehen, daß es nur für Pentosen charakteristisch ist, da Glykuronsäure in den Quantitäten, wie sie für Harn in Frage kommen, sowie Hexosen einen negativen Ausfall der Probe bedingen sollen. Nach Sachs soll auch das abgeänderte Verfahren nicht hinreichend genau und eindeutig sein.

7. Pentosehaltiger Harn mit dem gleichen Volumen rauchender Salzsäure zum Sieden erhitzt, entwickelt Furfurol, das einen mit Anilinacetat getränkten Papierstreifen sehr schnell lebhaft kirschrot färbt.

Beurteilung.

Außer freier Glykuronsäure sollen andere Kohlenhydrate diese Reaktion nicht merklich zeigen.

8. Nach K. v. Alftan.¹⁾

Durch Behandlung mit Benzoylchlorid und Natronlauge (S. 255) gehen sowohl Pentosen wie Glykuronsäuren in Benzoyl ester über. Werden diese durch Natriumäthylat verseift, so scheiden sich die Glykuronsäuren als in Alkohol unlösliche Natriumsalze aus, während die Pentosen in Lösung bleiben. Der positive Ausfall der Phloroglucin- oder Orcinprobe im Filtrate ist dann nur auf Pentosen zu beziehen.

Beurteilung.

Es sollen bei dieser Probe die störenden Glykuronsäuren ausgeschlossen werden, was aber nach Untersuchungen nicht der Fall ist.

Wegen der Pentosereaktion in filtrierten Flüssigkeiten macht F. Ueber (früher schon Huppert) darauf aufmerksam, daß sich aus allen Filtrierpapieren durch normalen Harn Substanzen extrahieren lassen, die die Tollenssche Orcinreaktion mit dem charakteristischen Absorptionsstreifen und ebenso die Phloroglucinprobe deutlich geben können. Für die Arbeiten mit Pentosen ist man daher, zumal wenn es sich beim Nachweise um geringe Mengen handelt, auf die Benutzung von Glaswolle oder am besten von Asbestfiltern beim Filtrieren angewiesen.

9. Phenylhydrazinprobe.

Durch Darstellung des Osazons soll aller Zweifel, ob Pentosen vorhanden sind, zerstreut werden. Zur Herstellung des Osazons gibt E. Salkowski folgende Arbeitsweise an: 200–500 ccm Harn werden in einem Becherglase auf 100 ccm Harn mit 2,5 g in Essigsäure im Überschuß gelösten Phenylhydrazin oder mit einer Lösung von 3,5 g salzsaurem Phenylhydrazin und der 1,5fachen Menge essigsäurem Natrium versetzt; die Flüssigkeit wird bis zum beginnenden Sieden erhitzt und das Becherglas noch 1 bis 1¼ Stunden im siedenden Wasserbade belassen. Nach dem Erkalten werden die beim Vorhandensein von Pentosen (Hexosen) vorhandenen Krystalle abfiltriert, auf Filtrierpapier abgetrocknet und aus heißem Wasser oder besser aus heißem, stark verdünntem Alkohol wiederholt bis zum gleichbleibenden Schmelzpunkte umkrystallisiert.

Dieses Osazon wird nach Neuberg in wenig Pyridin gelöst, mit Wasser verdünnt und nach erfolgtem Ausrystallisieren und Umkrystallisieren auf seinen Schmelzpunkt geprüft. Er beträgt etwa 157–160° bei dem aus dem Harn gewonnenen Osazon; in ganz reinem Zustande zeigt das Osazon den Schmelzpunkt 166–168°. Der Stickstoffgehalt des Osazons beträgt 16,9–17,1%. Eine kleine Probe der Phenylhydrazinverbindung gibt mit etwa 4 ccm Vanillin-Salzsäure (1 g Vanillin in 100 ccm 10%iger Salzsäure) in einem Reagenzglas versetzt und umgeschüttelt in der Kälte schon eine intensive Rotfärbung (Jolles²⁾).

Nach F. Blumenthals und P. Mayers Untersuchungen gibt das Osazon bei der Orcinprobe (Amylalkohollösung) zwei Streifen in Rot, während das Glykosazon nur einen aufweist.

Eine Trennung der Pentosen von der Dextrose soll auch auf Grund der ungleichen Löslichkeit der Osazone gelingen; das Pentosazon löst sich schon bei 60°, während bei dieser Temperatur das Glykosazon so gut wie

¹⁾ Archiv exper. Patholog. Therap. 1902. 47. 417.

²⁾ Zentralbl. f. innere Mediz. 1905. 26. Nr. 43.

unlöslich ist. Man zieht daher den mit Phenylhydrazin aus Harn nach 1½stündigem Erhitzen erhaltenen krystallisierten Niederschlag mit Wasser von 60° aus; das in Lösung gegangene Pentosazon wird durch mehrmaliges Umkrystallisieren leicht auf den richtigen Schmelzpunkt gebracht. Die nadel-förmigen Krystalle der Osazone der Arabinose schmelzen bei 166—168°.

Wahl der Methode.

Man sei mit dem Nachweis recht vorsichtig und verwechsle vor allem die Pentose nicht mit Glykose; man vergesse nicht, den Harn zu vergären (s. aber S. 260) und zu polarisieren. Weiter führe man die Proben genau in der angegebenen Weise durch und vermeide vor allem überflüssiges und länger andauerndes Erhitzen des Harnes mit der Säure; die Bialsche Methode in den Ausführungen von E. Kraft, von A. Neumann möchte ich empfehlen. Man wird die Anwesenheit der Pentosen noch durch die eine oder andere Probe sicherstellen müssen. Nach den von zahlreichen und maßgebenden Forschern gewonnenen Ergebnissen besitzt z. B. auch die Bialsche Probe nur einen orientierenden Wert.

Man denke endlich daran, daß, wenn man allein den positiven Ausfall der Farbenreaktionen als für die Anwesenheit von Pentosen sprechend ansehen will, auch Glykuronsäuren diese geben können. E. Justin-Müller¹⁾ erwähnt, daß Skatol- und Indoxylfarbstoffe die Farbreaktionen unter Umständen beeinflussen.

1. Quantitative Bestimmung der Arabinose nach C. Neuberg und J. Wohlgemuth.²⁾

Bei Anwendung dieser Methode ist Voraussetzung, daß der Harn nicht weniger als etwa 1% Arabinose enthält. Verdünntere Lösungen, wie genuiner Pentosenharn bei Pentosurie, müssen zuvor im Vakuum konzentriert werden.

Prinzip.

Die Bestimmung beruht auf der Abscheidung der Arabinose als Diphenylhydrazon.

Ausführung.

100 cem Harn, nötigenfalls größere Mengen, die zu konzentrieren sind, werden mit 2 Tropfen 30%iger Essigsäure angesäuert, auf dem Wasserbade auf etwa 40 cem eingedampft und mit 40 cem heißen Alkohols von 96% versetzt. Man läßt erkalten und 2 Stunden stehen, dann filtriert man von den ausgeschiedenen Uraten und anorganischen Salzen ab und wäscht sorgfältig mit 40 cem Alkohol von 50% nach. Zu dem Filtrate setzt man 1,4 g reines Diphenylhydrazin und erwärmt in einem nicht zu kleinen Becherglase ½ Stunde in siedendem Wasserbade, wobei man durch Ersatz des verdampfenden Alkohols einer Entmischung der Flüssigkeit vorbeugt. Nach 24 Stunden filtriert man die ausgeschiedene Krystallmasse in einem Gooch'schen Tiegel ab, indem man zunächst immer die Mutterlauge zum Nachspülen verwendet, und wäscht schließlich mit 30 cem 30%igen Alkohols aus, der die Verbindung blendendweiß zurückläßt. Der Tiegel wird sodann bei 80° im Trockenschranke bis zur Gewichtskonstanz getrocknet; das Hydrazon darf höchstens einen schwach violetten Schimmer annehmen.

Durch Multiplikation mit 0,4747 oder Division mit 2,107 erhält man aus dem Hydrazon die entsprechende Menge Arabinose.

Beurteilung.

Nach den Angaben der Verf. hat sich diese Methode gut bewährt. Der Gehalt an Arabinose darf nicht geringer als etwa 1% sein; verdünntere Lösungen sind im Vakuum zu konzentrieren.

¹⁾ Journ. Chem. Pharm. 1921. 317; Chem. Ztg., chem. techn. Übers. 1921. 45. 330.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1902. 35. 41.

2. Bestimmung nach der Methode von A. Jolles.¹⁾

Prinzip.

Die Methode beruht auf der Überführung der Pentosen in Furfurol; dieses wird mit Bisulfitlösung behandelt, die nicht absorbierte Lösung wird mit Jodlösung zurücktitriert.

Erforderliche Lösungen:

$\frac{1}{10}$ n-Jodlösung. Man kann auch eine Lösung verwenden, deren Gehalt in bekannter Weise festgestellt wird.

Eine Bisulfitlösung, von der 10 ccm etwa 20 ccm der Jodlösung verbrauchen. Die Bisulfitlösung stellt man stets mit der Jodlösung ein.

Ausführung.

100 ccm Harn werden in einem Rundkolben von etwa $1\frac{1}{2}$ Liter Inhalt mit ungefähr 150 ccm Salzsäure (spez. Gew. 1,06) versetzt; durch diesen Kolbeninhalt werden Wasserdämpfe (S. 126) und die furfurolhaltigen Dämpfe durch einen Kühler in eine Vorlage, geeichten Meßkolben, geleitet. Das Destillat, etwa 500–1000 ccm, wird auf ein bestimmtes Volumen, am besten auf 1 Liter bei 15° aufgefüllt. Hievon werden 100 ccm unter Kühlung im Becherglase mit 20%iger Natronlauge und Methylorange als Indicator neutralisiert, etwa 2 Tropfen Lauge im Überschuß hinzugefügt und dann mit $\frac{1}{2}$ n-Salzsäure bis zur eintretenden Rotfärbung titriert. Nach einigen Minuten tritt Umschlag in Gelb ein; man fügt abermals 2 Tropfen $\frac{1}{2}$ n-Salzsäure hinzu und läßt einige Minuten stehen; es tritt wieder Umschlag in Gelb ein; dieses wird wiederholt, bis die Färbung bestehen bleibt. Das Destillat wird nun mit 10 ccm Bisulfitlösung versetzt und das nicht verbrauchte Bisulfit nach zweistündiger Einwirkung zurücktitriert.

1 Mol. Pentose = 1 Mol. Furfurol = 1 Mol. Bisulfit; dieses entspricht 2 At. Jod; 1 ccm Normaljodlösung = 0,075 g Pentose; 1 ccm $\frac{n}{10}$ Jodl. = 0,0075 g Pentose.

Beurteilung.

Aceton, Acetessigsäure, flüchtige Aldehyde müssen erst durch Kochen des Harnes mit Essigsäure entfernt werden. Glykuronsäuren wirken auch ein, sollen aber nach Jolles einen nennenswerten Einfluß nicht haben. Ob nicht andere furfurolbildende Stoffe stören können, ist noch nicht entschieden. Man wird zweckmäßig weitere Erfahrungen sammeln müssen.

3. Eine sichere quantitative Bestimmung der Pentosen auf Grund des Reduktionsvermögens durch Verbrauch an Kupferlösung ist nach unseren Erfahrungen zurzeit nicht möglich.

Eigenschaften.

Aus dem Diphenylhydrazon (Schmelzpunkt 206°) kann durch Spaltung mit Formaldehyd die inaktive racemische Arabinose, die bei der eigentlichen chronischen Pentosurie vorkommt, als solche gewonnen werden. Das r-Arabinose-Diphenylhydrazon bildet lange, weiße Nadeln, schwer löslich in heißem Wasser, in heißem Alkohol, unlöslich in kaltem Wasser und Alkohol, leicht löslich in Pyridin und Eisessig. Die reine racemische Arabinose wird nach der Abscheidung erst als süßer Sirup durch Behandeln im Vakuum krystallinisch und durch weiteres Umkrystallisieren krystallisiert in Form von Prismen erhalten; sie schmilzt bei 163–164°, schmeckt süß und ist leicht löslich in Wasser, wenig löslich in Alkohol. Die inaktive racemische Arabinose, die hier in Betracht kommt, da ja die Xylose, wie schon erwähnt, nicht im Harn zu finden ist, ist optisch völlig inaktiv und gärt nicht, reduziert aber ungefähr wie Traubenzucker. Die weiteren Eigenschaften beruhen in den beim Nachweise angegebenen Reaktionserscheinungen und in der Bildung von charakteristischen Verbindungen.

Die bei der alimentären Pentosurie (S. 259) im Harn auftretende l-Arabinose krystallisiert in Prismen, die bei 160° schmelzen, ist leicht löslich

¹⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1907. 46. 764.

in Wasser, schwer in Alkohol, nicht löslich in absol. Alkohol und Äther. Diese Arabinose ist rechtsdrehend, $\alpha_{[D]} = +104-105^\circ$ (Parcus-Tollens), sie gärt nicht. Sie dürfte wohl, wie Blumenthal meint, häufiger vorkommen, als sie gefunden wurde, da geringe Mengen rechtsdrehender Substanz im Harn leicht übersehen werden oder sich nicht zeigen. Das l-Arabinose-Diphenylhydrazon bildet weiße Nadeln und schmilzt bei 218° ; in Pyridin-Alkohol gelöst dreht es rechts.

B. Harnzucker, eine Aldose (Traubenzucker, d-Glykose, Dextrose). $C_6H_{12}O_6$.

Nach den Resultaten der sorgfältig vorgenommenen Untersuchungen können auch in einem normalen Harn Spuren von Traubenzucker enthalten sein, die jedoch höchstens $0,02\%$, gewöhnlich aber darunter, betragen, so daß ein Vorhandensein von Zucker über der angegebenen Zahl stets auf einen pathologischen Harn hinweist. Nach den Ergebnissen sehr zahlreicher Versuche von B. Schöndorff¹⁾ enthält jeder normale Harn geringe Mengen von Zucker und zwar von $0,0105-0,0274\%$; infolge übermäßigen Genusses von Kohlenhydraten kann diese Zuckermenge bis zu $0,1\%$ steigen. Laveson²⁾, K. A. Hasselbach und J. Linhard³⁾ fanden ähnliche Werte. Siehe bei reduzierenden Substanzen. Der im Harn vorkommende Zucker ist Traubenzucker⁴⁾, und zwar d-Glykose, wie Le Goff und dann G. Patéine und E. Dufeu mit Sicherheit nachgewiesen haben. Nach C. Tanret kommt Traubenzucker in drei Modifikationen, α, β, γ -Form, vor; im Harn soll die β -Form vorhanden sein. Nach L. B. Winter und W. Smith⁵⁾ ist der Blutzucker des normalen Menschen- und Tierblutes eine nicht haltbare Form der Glykose (γ) mit anfänglicher Linksdrehung; nach Einnehmen größerer Mengen Traubenzucker oder Lävulose findet man nur diese γ -Glykose im Blute.

Der Blutzucker des Diabetikers ist dagegen eine α, β -Glykose; sie wird durch ein Ferment in γ -Glykose verwandelt. Dieses Ferment fehlt beim Diabetiker oder ist inaktiviert. Es wird im Pankreas neben der das Glykogen in α, β -Glykose umwandelnden Diastase gebildet. Neben der Glykose sind im diabetischen Harn vereinzelt auch geringe Mengen Pentosen (S. 259) nachgewiesen worden, in selteneren (sehr seltenen) Fällen wurde auch Lävulose (s. d.) vorgefunden.

Eine reichliche Zufuhr von zuckerhaltiger Nahrung, besonders wenn solche in größerer Menge nüchtern genommen wird, auch der Genuß reichlicher Mengen süßer alkoholischer Getränke (süßer Wein, besonders

¹⁾ Archiv Physiol. 1908. 121. 572.

²⁾ Biochem. Zeitschr. 1907. 4. 40.

³⁾ Ebenda. 1910. 27. 274.

⁴⁾ Die Identität des Harn- und Traubenzuckers wurde 1838 von Bouchardat und Péligot festgestellt.

⁵⁾ Journ. of. Physiolog. 1922. 57. 100; Brit. Medic. Journ. 1923. 1. 12; Chem. Centralbl. 1923. 94. I. 553. 710.

Champagner¹⁾, auch Bier) kann eine rascher oder langsamer vorübergehende Zuckerausscheidung (Glykosurie, Meliturie, physiologische oder alimentäre Glykosurie e. saccharo) hervorrufen. Nach Genuß von Spargel beobachtete R. Nußbaum²⁾ nach 2 Stunden Zucker im Harn, der nach 2 weiteren Stunden wieder verschwunden war. Hier handelt es sich eigentlich nicht um eine Verminderung der zuckerzerstörenden Kraft, es scheint vielmehr ein Teil des Zuckers nicht in die Blutbahn, sondern in die Chylusbahn überzutreten (Ginsberg). Der Organismus, dessen Fähigkeit, Traubenzucker zu assimilieren, selbstverständlich keine unbegrenzte ist, vermag in solchen Fällen den Zucker nicht rasch genug dem allgemeinen Stoffwechsel zu entziehen und ihn als Glykogen oder als Fett abzulagern, die Assimilationsgrenze des Organismus für den Zucker ist überschritten. Solche Zuckerausscheidung hat mit Diabetes nichts zu tun, da diese Glykosurie von der Menge des eingeführten Zuckers, von der Durchlässigkeit der Nieren, vielleicht von einer Schwächung oder einer allgemeinen Herabsetzung der Leistungsfähigkeit der Leberzellen (E. Abderhalden), nicht aber von einer Verminderung der zuckerzerstörenden Kraft abhängig ist. Die vorübergehende Glykosurie kann auch eine Folge sein von Milchwuckerausscheidungen bei Milchstauung der Schwangeren und Säugenden (Lactosurie), ferner von gewissen operativen Eingriffen; sie wird weiter beobachtet bei Störungen des Nervensystems, bei Cholera, bei Leberkrankheiten, bei Fiebernden, bei Krankheiten des Gehirns, des Rückenmarks, bei traumatischer Neurose, bei Herz- und Lungenkrankheiten, bei akutem Alkoholismus, bei Gicht, bei Leuten mit Arteriosklerose, wenn sie die Gefäße des Pankreas befällt, ferner treten nach Intoxikationen mit Opiumalkaloiden, Curare, Coffein, Theobromin, Chloral, Chloroform, Amylnitrit, Blei, Kohlenoxyd Zuckerausscheidungen auf, so daß wir in solchen Fällen von einer toxischen Glykosurie, auch von einer spontanen Glykosurie sprechen. Die Gifte wirken teils die Zuckerbildung befördernd auf die Leber, z. B. Adrenalin, teils direkt auf die Nieren (Phlorrhizin); Adrenalin besitzt auch noch eine Nierenwirkung, da Mengen, die bei Menschen keine nennenswerte Hyperglykämie hervorrufen, trotzdem eine beträchtliche Glykosurie bewirken können. Viele Gifte, die einen starken Nierenreiz ausüben, wie Sublimat, Kantharidin u. a. veranlassen eine Zuckerausscheidung ohne Steigerung des Blutzuckers.

Erwiesen ist, worauf Ch. Gaskell Higginson aufmerksam macht, daß septische Erkrankungen (so auch von schweren Karbunkeln) häufiger transitorische „saprämische“ Glykosurie erzeugen. — Nicht selten ist das Auftreten von Glykosurie bei Leuten, die schlecht genährt waren, meist längere Zeit ein unstetes Wanderleben geführt und dabei eine hauptsächlich vegetabilische, kohlenhydratreiche Kost zu sich genommen haben. G. Hoppe-Seyler nennt diese Glykosurie die der Vaganten.

¹⁾ F. Blumenthal a. a. O. berichtet über solche interessante Fälle (Champagnerglykosurie).

²⁾ Apoth.-Ztg. 1920. 35. Nr. 35.

Zu erwähnen ist auch das Vorkommen von Zucker bei Leuten, die unter schwerer seelischer Angst standen, auch z. B. bei Studenten nach einem Examen usw.; sobald das seelische Moment behoben war, verschwand der Zucker, v. Noorden spricht von einer Angstglykosurie (F. Blumenthal).

Wohl zu unterscheiden ist nach H. Sahli zwischen den Fällen von alimentärer Glykosurie, wo nur übermäßige Zufuhr von Zucker und derjenigen, wo außerdem auch allzu reicher Genuß von Amylaceen den Zuckergehalt des Urins bedingt.

Die letzteren Fälle beruhen jedenfalls auf einer schwereren Störung und man wird gut tun, diese Fälle als dem Diabetes mellitus nahestehend zu betrachten und die Bezeichnung physiologische oder alimentäre Glykosurie im engeren Sinne auf Fälle zu beschränken, wo Amylaceen in beliebiger Menge vertragen werden, wo aber allzu reiche Zuckerezufuhr Glykosurie erzeugt. Eine dauernde, anfangs meist spärliche, später reichlicher werdende Ausscheidung von Zucker im Harn, die meist mit einer Anzahl Störungen im Gesamtorganismus verbunden ist, bezeichnet man im Gegensatz zu der zeitweiligen Ausscheidung, der transitorischen Glykosurie, als Zuckerharnruhr, Diabetes mellitus.¹⁾ Diese Zuckerausscheidung ist dann eine bleibende Erscheinung bei gemischter Nahrung, nimmt ab oder verschwindet bei Fleischkost und nimmt zu nach kohlenhydratreicher Nahrung. Diese Krankheit ist in jedem Lebensalter — Erkrankungen bei Kindern und jungen Leuten bis zum 30. Lebensjahr sind meistens folgenschwer — beobachtet worden; es können oft ganz bedeutende Mengen Zucker, mitunter über 1 Kilogramm in 24 Stunden mit dem Harn ausgeschieden werden; eine Ausscheidung von $\frac{1}{2}$ Kilo im Tag ist keine Seltenheit; in Prozenten werden selten mehr als 9% beobachtet werden. Im Durchschnitt werden in schweren Fällen täglich 200—300 g entleert; Zucker findet sich dann in allen zu jeder Tageszeit gelassenen Harnportionen, während man in den leichteren Fällen sehr oft in dem am Morgen entleerten Harn keinen Zucker findet, sondern erst im Harn, der mittags oder abends nach den größeren Mahlzeiten oder nach dem Genuß von Kohlenhydraten ausgeschieden wurde. Es muß deshalb diese Tatsache bei Untersuchungen wohl berücksichtigt werden. Ein einwandfreies Ergebnis gewinnt man, wenn man den Gehalt an Zucker des in 24 Stunden gelassenen Harnes feststellt, wodurch zugleich die Gesamtausfuhr innerhalb dieser Zeit berechnet werden kann; man hat auch die Untersuchungen nach dem Wechsel der Nahrung fortzusetzen, um dem Arzte wertvolle Zahlen bieten zu können. Zu bemerken dürfte sein, daß die Menge des vorhandenen Zuckers kein Urteil über die Schwere oder über die Leichtigkeit des Falles erlaubt. Diese Unterscheidung ist von Traube und Seegen von der Wirkung einer zuckerfreien Diät abhängig gemacht; leichte Fälle wären solche, bei

¹⁾ Zur Geschichte des diabetischen Zuckers s. E. O. v. Lippmann, Chem. Ztg. 1920. 44. 1. E. Ebstein, Zur Entwicklung der klinischen Harndiagnostik, die Zuckerkrankheit. G. Thieme, Leipzig 1915.

denen durch Entziehung von Kohlenhydraten in der Nahrung keine Zuckerausscheidung mehr zu beobachten ist, schwere Fälle, in denen das Gegenteil der Fall ist.

Weiter kommen bei schweren Fällen noch die Bildung und das Vorhandensein von Aceton, Acetessigsäure und β -Oxybuttersäure, den sog. Acetonkörpern, in Betracht (siehe S. 108).

Ebenso wie der Gehalt des Zuckers, ist bei der Zuckerharnruhr auch die Menge des Harnwassers sehr verschieden; man findet oft eine ganz bedeutende Steigerung desselben (öfters bis 15 Liter und noch mehr im Tag). Die Kenntnis der Menge des Harnes ist von großer Wichtigkeit. Abhängig ist der Gehalt des Zuckers im Harn von der Art der Nahrung; kohlenhydrathaltige Nahrung hat eine Vermehrung, eiweißreiche eine Verminderung des Zuckers im Gefolge; wenn auch bei strenger Diät, Vermeidung aller zuckerbildenden Nahrungsstoffe eine starke Verminderung des Zuckers herbeigeführt werden kann, so scheint eine völlige Heilung in den schweren Fällen doch ausgeschlossen zu sein. Psychische Erregungen und Nervenkrankheiten steigern die Zuckermengen, Muskelanstrengung, fieberhafte Zustände vermindern sie.

Man findet in der Literatur noch die Bezeichnungen Pankreasdiabetes, Phlorrhizindiabetes, Nierendiabetes.

Pankreasdiabetes. Nach Entfernung des Pankreas tritt Diabetes ein; auch bei Pankreaserkrankungen wurde Diabetes beobachtet. Nach bisherigem Wissen kann das Pankreas an der Regulation des Zuckerstoffwechsels in folgender Weise beteiligt sein [F. Blumenthal¹⁾].

1. Das Pankreas sondert überhaupt nicht den oder die Aktivatoren für die Zuckerverbrennung ab. 2. Der Aktivator wird nicht in der richtigen Menge abgesondert. Muskelferment oder Gewebsferment und Aktivator sind demnach nicht in richtiger Korrelation, die Zuckerverbrennung findet infolgedessen nicht ausreichend statt (siehe S. 267). Das Pankreas kann aber auch gesund sein, der Muskel dagegen ist krank, dann treten diejenigen Fermente oder Kräfte nicht in Tätigkeit, welche den Zucker verbrennen, obwohl das Pankreas genügend Aktivatoren entsendet. (Muskeldiabetes.)

Phlorrhizindiabetes. Nach Einnehmen oder subkutaner Einspritzung von Phlorrhizin, einem Glykoside der Wurzelrinde des Apfelbaumes, wurde bei Menschen und Tieren eine reichliche Zuckerausscheidung nachgewiesen. Die Eigenschaft des Phlorrhizins wurde zur Prüfung für die Nierenfunktion bei der Nierendiagnostik vorgeschlagen.

Nierendiabetes. Dieser beruht in einer gesteigerten Durchlässigkeit der Nieren für Zucker. Die Fähigkeit des Organismus, den Zucker zu verbrennen, ist hier nicht verringert. Außerdem ist dieser Diabetes auch nach diuretischen Mitteln (Coffein, Theobromin, Cantharidin) zu beobachten, hier auch mit Hyperglykämie.

¹⁾ Handbuch der speziellen Pathologie des Harnes. Urban u. Schwarzenberg, Berlin-Wien 1913.

Zu erwähnen möchte sein, daß der Diabetes insipidus nichts mit dem Diabetes mellitus zu tun hat. Der Diabetes insipidus ist ausgezeichnet durch eine enorme Polyurie, 8—10 Liter und darüber; der Harn hat ein sehr niedriges spezifisches Gewicht. Die Polyurie ist nach Senator die einzige hervorstechende Krankheitserscheinung, die Fähigkeit, einen konzentrierten Harn zu liefern, ist geschädigt. Die Ursache der Polyurie und des Wesens des Diabetes insipidus ist noch nicht aufgeklärt.

Ich möchte hier wie beim Diabetes mellitus auf die Ausführungen von F. Blumenthal hingewiesen haben.

Eigenschaften eines sog. Zuckerharnes.

Die Farbe des diabetischen Harnes ist fast durchgehends abnorm blaß; das spezifische Gewicht ist bei größeren Zuckermengen ein hohes — 1,04 bis 1,060 sogar —, doch auch wieder normal, so daß aus dem spezifischen Gewichte auf die vorhandene Menge an Zucker im allgemeinen nicht geschlossen werden kann; meist ist die Harnmenge vermehrt; sie schwankt zwischen $2\frac{1}{2}$ und 8 Litern und noch mehr für 24 Stunden; doch ist die Polyurie nicht stets die Regel, es können hohe Zuckermengen bei normaler Harnmenge gefunden werden, andererseits kann wieder ein geringer Zuckergehalt bei sehr gesteigerter Harnabsonderung vorhanden sein.

Schließlich kann aus einem hohen spezifischen Gewichte allein nicht auf eine Anwesenheit von Zucker in einem Harn geschlossen werden und andererseits kann ein niedriges spezifisches Gewicht einen Zuckergehalt nicht als fehlend erscheinen lassen. Sedimente scheidet diabetischer Harn im Beginne der Krankheit aus; durch die Zunahme des Zucker- und Wassergehaltes verschwinden sie und treten erst bei verminderter Harnmenge wieder auf. Harnstoff, Ammoniak, Kreatin, Indican, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Chlor und Alkalien, Kalk, Oxalsäure sind mehr oder weniger erheblich vermehrt, die Harnsäure ist vermindert. Der Geruch ist meist fade, obstähnlich (Aceton), der Geschmack mehr oder weniger süßlich, die Reaktion sauer. Nach längerem Stehen finden sich im diabetischen Harn zahlreiche Hefezellen, man bemerkt auch vorher durch die veranlaßte Gärung eine Entwicklung von Kohlensäure. In schweren Diabetesfällen enthält der Harn viel Aceton, bei schweren nervösen Störungen (Koma, Asthma) auch Acetessigsäure, β -Oxybuttersäure, Fettsäuren, Zeichen auch eines starken Zerfalls von Körpereweiß.

F. Blumenthal glaubt, in der Phosphat- und Ammoniakausscheidung für die Schwere des Diabetes einen noch sichereren Maßstab zu gewinnen, als bei der alleinigen Prüfung auf Zucker und Aceton.

Öfters — Grube fand, daß Albuminurie und Diabetes in 40% der Fälle gleichzeitig vorkommen — ist mit der Zuckerharnruhr auch Albuminurie verbunden.

Über die Ursache, Bildung und Entstehung, sowie über das Wesen des Diabetes sind eine Reihe von Theorien aufgestellt worden, auf die alle

selbstverständlich nicht eingegangen werden kann, es soll nur das Wesentlichste Erwähnung finden. Im Magendarmkanal werden die Kohlenhydrate in d-Glykose, in l-Fruktose und Galaktose umgewandelt und diese zunächst als Reservestoffe in Form von Glykogen, einem hochmolekularen kolloiden Kohlenhydrate, in Leber und Muskeln, oder als Fett aufgespeichert. Das Auftreten des Zuckers im Harn ist bedingt durch eine Anreicherung des Zuckers im Blute und scheint eine Ursache, vielleicht die wesentlichste der Hyperglykämie und der Glykosurie darin zu bestehen, daß der zuckerkranke Organismus, Muskeln, Leber, die Fähigkeit verloren haben, das Zuckermolekül durch die erforderliche Lockerung oder Spaltung, überhaupt Vorbereitung für die normale vollkommene Verbrennung geeignet zu machen. Der Gehalt an Zucker im normalen Blute beträgt im Durchschnitt 0,08% mit Schwankungen von 0,05—0,11%; ein Überschuß wird durch die Nieren entfernt. Die Lockerung des Zuckermoleküls obliegt in der Hauptsache den Muskeln; eine unvollständige Spaltung des Zuckers deutet deshalb auf eine Störung der chemischen Vorgänge in den Muskeln — Störung in der Bildung des für die Traubenzuckerspaltung erforderlichen Fermentes — und diese Störung ist wohl wieder die Folge des Einflusses des Nervensystems, eine degenerative Erkrankung gewisser Zentren desselben. Der gesunde Muskel hat eben infolge des geschilderten Einflusses seine Eigenschaft, den normalen Stoffwechsel in der Weise zu besorgen, daß der aus dem Muskelglykogen gebildete Traubenzucker gespalten wird, und die Spaltungsprodukte eine Verbrennung erfahren, zum Teil verloren, die notwendige Spaltung ist eine unvollkommene, ohne diese aber kann der Zucker nicht verbrannt werden; er erzeugt Hyperglykämie und tritt aus dem Blute in den Harn über. Da nach O. Baumgartens Versuchen Stoffe, die ihrer Aldehydnatur nach verwandtschaftliche Beziehungen zum Traubenzucker haben oder durch ihre chemische Konstitution als Oxydationsprodukte der Glykosegruppe zugehören, vom Diabetiker verbrannt werden, so scheint es, als ob die fermentative Aufspaltung oder Auflockerung, die der Oxydation des Zuckers im Organismus vorauszugehen scheint, vom Diabetiker nicht geleistet wird oder nur mehr oder minder unvollständig ist. Vielleicht wäre die Hyperglykämie auch zu erklären durch eine infolge der Schädigung der Funktion der Leberzellen bedingte mangelhafte Glykogenbildung; die Leberzellen vermögen den resorbierten Zucker nicht vollkommen in Glykogen umzuwandeln, wodurch ein Teil ins Blut gelangt und Glykosurie erzeugt (Neumeister). In der Leber vollzieht sich ja die Zurückhaltung des Zuckers und Umwandlung dieses in Glykogen, das als Reservestoff aufgespeichert und je nach Bedarf nach Zurückverwandlung in diffundiblen Zucker zum Verbrauch zurückgeführt wird. (Schürmayer.) Daraus wird erklärlich, daß Störungen der Leberfunktionen die richtige Regelung der erwähnten Umwandlung nicht vor sich gehen lassen können. Bekannt ist, daß nach Degeneration und Exstirpation des Pankreas Diabetes eintritt. Unter Umständen ist auch diese Erscheinung mit den angegebenen Störungen in den Funktionen des Nervensystems in Einklang zu bringen,

indem vielleicht ein notwendiges aktivierendes Agens von der Pankreasdrüse nicht geliefert wird (siehe S. 269).

Nach allem, was man bis jetzt über den Diabetes weiß, unterliegt es wohl keinem Zweifel mehr, daß die Zuckerkrankheit keine einheitliche und auf den Zuckerstoffwechsel beschränkte Krankheit darstellt, sondern daß diese durch verschiedenartige pathologische Prozesse, durch direkte und indirekte Funktionsstörungen hervorgerufen wird.

Nach Blumenthal ist auch der Stoffwechsel der Eiweißkörper beim schweren Diabetiker gestört, es tritt eine Abartung in dem Abbau der Eiweißkörper ein.

F. Blumenthal und F. Umber nehmen an, daß es sich um eine synthetische Bildung von Zucker im Organismus handelt und daß bei dieser Bildung schwere Störungen im Stoffwechsel statthaben müssen, wofür das Auftreten von Aceton, Acetessigsäure usw. spräche. Bei dem schweren Diabetes soll Zucker auch aus Eiweiß gebildet werden.

Für wahrscheinlich wird es gehalten, daß für Diabetes eine durch Vererbung erworbene (latente) Diathese besteht; für manche Fälle von Glykourie läßt sie sich sicherlich beweisen (Th. Brugsch).¹⁾

Die Herkunft, die Quelle des Harnzuckers kann zumal bei den großen Mengen, die ausgeschieden werden können, nicht ausschließlich in den Kohlenhydraten der Nahrung oder dem Kohlenhydratvorrat des Körpers zu suchen sein; der Organismus des Diabetikers muß die Fähigkeit haben, auch aus anderem Material Traubenzucker erzeugen zu können. Die Frage, ob der Zucker aus Eiweiß oder aus Fett gebildet wird, ist noch nicht entschieden; theoretisch würde der Annahme nichts im Wege stehen, daß der Tierkörper d-Glykose sowohl aus Eiweiß, Aminosäuren, wie aus Fett zu bilden vermag. Die wertvollen Versuche von Lüthje, von Embden und Salomon, Embden und Almagia, Lusk und Ringer sprechen zugunsten einer solchen Annahme.

Ich möchte nicht zu erwähnen vergessen, daß nach H. Koenigsfeld durch eine meist infolge reichlichen Genusses von Alkalien entstandene alkalische Reaktion des Harnes ein Teil der ausgeschiedenen Dextrose in Lävulose invertiert werden kann (s. bei Lävulose).

Darstellung des Harnzuckers aus dem Harn.

Ein oder mehrere Liter Harn werden mit essigsaurem Blei gefällt; das Filtrat wird durch Einleiten von Schwefelwasserstoff von dem im Überschuß zugesetzten Blei befreit und der Schwefelwasserstoff durch Durchleiten von Luft entfernt; das Filtrat dampft man nach dem Abfiltrieren des Schwefelbleies im Wasserbade zu einem dünnen Sirup ein und überläßt diesen nach dem Übergießen mit Alkohol der Krystallisation. Die ausgeschiedenen Krystalle werden nach dem Zerreiben mit absolutem Alkohol, auch reinem wasserfreiem Methylalkohol, ausgewaschen und am besten aus Methylalkohol umkrystallisiert. Oder man bedient sich, besonders bei Anwesenheit nur

¹⁾ a. a. O.

geringer Zuckermengen, der Fällbarkeit des Harnzuckers als Bleisaccharat durch essigsaures Blei und Ammoniak; den Niederschlag verteilt man in Alkohol, leitet Schwefelwasserstoff hindurch, filtriert und dampft zum Sirup ein. Man löst den Rückstand in absolutem Alkohol und fügt alkoholische Kalilauge hinzu, bis ein Niederschlag entsteht. Man filtriert, löst den aus Traubenzuckerkalium bestehenden Niederschlag in wenig Wasser, leitet Kohlensäure bis zur Sättigung ein (man darf den Zucker nur ganz kurze Zeit mit Kali in Verbindung lassen, da sonst Zersetzung des Zuckers eintritt), fällt die Lösung mit viel absolutem Alkohol, filtriert und verdunstet bei möglichst niedriger Temperatur.

Zur Gewinnung sehr kleiner Mengen Zucker aus großen Harnmengen hat B. Schöndorff¹⁾ ein Verfahren beschrieben.

Eigenschaften des Harnzuckers.

Der Harnzucker krystallisiert aus Wasser in weißen körnig-krystallinischen oder warzenförmigen Massen; wasserfrei krystallisiert er in kleinen durchsichtigen Prismen, aus Methylalkohol in monoklinen Zwillingskrystallen. Er ist in Wasser leicht, schwerer in Äthyl- und Methylalkohol löslich; letzterer löst in der Siedehitze reichlich Traubenzucker und scheidet beim Erkalten einen großen Teil des gelösten wasserfrei ab, weswegen sich der Methylalkohol besonders zum Umkrystallisieren und zum Reinigen eignet.

Aus seinen Lösungen wird der Harnzucker vollständig durch basisches Bleiacetat und Ammoniak als basisches Bleisalz gefällt. Man benutzt diese Eigenschaft zur Isolierung kleiner Zuckermengen aus Harn. Mit Chlornatrium gibt der Harnzucker verschiedene Verbindungen; eine solche $2(C_6H_{12}O_6) \cdot NaCl + H_2O$ scheidet sich aus diabetischem Harn in schönen sechseitigen Doppelpyramiden oder in Rhomboedern aus; auch Kalk und Baryt geben Verbindungen mit Traubenzucker. Traubenzuckerlösungen reduzieren in der Wärme alkalische Kupferoxyd-, Silberoxyd-, Quecksilberoxydlösungen, wobei der Zucker zu Tartronsäure, Ameisensäure, Essigsäure und zu anderen Säuren oxydiert wird; es gründen sich auf dieses Verhalten bestimmte, sehr wichtige Zuckerreaktionen. Durch Salpetersäure wird der Traubenzucker in Zuckersäure verwandelt. Seine wässrige Lösung dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts, und zwar beträgt die spezifische Drehung für das Anhydrid $+52,74^\circ$. Die frische Lösung zeigt Birotation, die durch Erwärmen der Lösung oder längeres Stehen derselben aufgehoben wird. Mit essigsaurem Phenylhydrazin liefert Glykose ein in feinen gelben Nadeln krystallisierendes, bei 204° schmelzendes Phenylglykosazon. In wässriger neutraler oder schwach saurer Lösung mit Hefe zusammengebracht, wird der Traubenzucker vergoren und zerfällt in Alkohol und Kohlensäure; am glattesten geht die Gärung bei 25° vor sich.

Beim Erwärmen der Traubenzuckerlösungen mit Kalium- oder Natriumhydroxyd tritt eine Zersetzung des Zuckers ein (Bräunung).

¹⁾ a. a. O.

Spaeth, Untersuchung des Harnes. 5. Aufl.

Qualitativer Nachweis des Zuckers.

Der Nachweis des Zuckers im Harn gehört zu den Untersuchungen in der Harnanalyse, die am häufigsten auszuführen sind; dieser Nachweis erfordert jedoch, so einfach er zu sein scheint, Geduld und Vorsicht, wenn nur kleine Mengen Zucker vorhanden sind. Es sei nochmals daran erinnert, daß bei der Prüfung wohl zu berücksichtigen ist, ob sich der Zucker in allen zu jeder Tageszeit gelassenen Harnportionen findet oder nur nach großen Mahlzeiten und nach dem Genuß von Kohlenhydraten. Es wurde S. 268 schon erwähnt, daß z. B. sog. Morgenharn (nüchtern entleert) keinen Zucker, Harn nach eingenommenem Frühstück oder Harn nach Mahlzeiten entleert sogar nicht geringe Zuckermengen enthalten kann. Am besten ist es immer, in erster Linie den innerhalb 24 Stunden entleerten Harn zur Untersuchung zu nehmen und die entleerte Menge zu kennen, dann aber auch den zu verschiedenen Zeiten, nach Mahlzeiten, auch nach körperlichen Bewegungen gelassenen Harn zu prüfen. Notwendig sind weiter wiederholte Harnuntersuchungen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind für den Arzt für zu ergreifende Maßnahmen diätetischer Art und zur Prüfung des Erfolges der verordneten Lebensweise von großer Bedeutung. Vor allem muß schon vor Anführung der wichtigsten Verfahren betont werden, daß man sich nie mit dem positiven Ausfall einer Probe begnügen darf, sondern daß man stets noch weitere Proben ausführen muß, bevor das endgültige Urteil gefällt wird, was um so notwendiger erscheint, wenn man daran erinnert, daß einige der im nachstehenden aufgeführten Reaktionen nicht allein dem Harnzucker, sondern auch anderen Körpern, Arzneistoffen oder Umwandlungsprodukten dieser im Organismus eigen sind und deshalb Täuschungen vorkommen können; es wird bei Besprechung der Proben und Reaktionen auf diese Tatsachen aufmerksam gemacht werden. Findet man Zucker, dann bestimme man seine Menge.

Vorbereitung des Harnes zum qualitativen Nachweis des Zuckers.

Man vergesse nicht, zuckerhaltigen Harn alsbald auch auf die Acetonkörper und auf Eiweißgehalt zu prüfen.

Vor der weiteren Prüfung auf Traubenzucker muß man zunächst die Abwesenheit von Eiweiß und Schwefelwasserstoff feststellen; das Eiweiß, das beim Zuckernachweis störend wirkt (Trommersche Probe kann bordeauxrote Färbung geben, die Wismutprobe wird damit braun, braungelb bis schwarz), scheidet man am besten durch Kochen des Harnes allein oder, wenn nötig, nach Zugabe einiger Tropfen Essigsäure ab und nimmt das Filtrat für die Reaktionen.

Wenn etwa zur Konservierung des Harnes Chloroform zugesetzt ist, dann muß es durch einen Luftstrom oder durch Erwärmen des Harnes beseitigt werden.

Bei Anwesenheit von Schwefelwasserstoff (S. 93) wird dieser durch Schütteln des Harnes mit Bleiweiß entfernt und das Filtrat verwendet.

Für die Vornahme einer recht genauen Prüfung nimmt man den Harn nicht direkt; man gibt zu 50 ccm Harn 5 ccm neutrales Bleiacetat oder Bleiacetat in Substanz (2–3 g), schüttelt bei Anwendung des letzteren bis zur Lösung, filtriert und entfernt aus dem Filtrate durch einige Kubikzentimeter einer gesättigten Lösung von Natriumphosphat das Blei. Das vollkommen helle, ungefärbte Filtrat verwendet man für die Reaktionen. Selbstverständlich muß der Harn sauer sein und sauer bleiben, sonst setzt man vorher einige Tropfen Essigsäure zu. Aus alkalischem Harn wird durch Blei Zucker gefällt. Bleiessig fällt Fruktose.

Man kann auch das Filtrat des Harnes, wie er für die Zwecke der polarimetrischen Prüfung (s. d.) vorbereitet wurde, verwenden, oder die Reinigung mit Quecksilberacetat vornehmen (s. später).

Auf die eine oder die andere Weise entfernt man Farbstoffe und weitere die Reduktion beeinflussende oder selbst reduzierende Stoffe, soweit als möglich. Dies Verfahren empfiehlt sich besonders bei starkgefärbten Harnen.

Der Anwendung von Tierkohle zur Entfärbung möchte ich, da eine, wenn auch minimale Absorption des Zuckers durch Kohle nun einmal konstatiert ist, nicht das Wort reden, es sei denn, daß man sich durch Versuche von der Brauchbarkeit der Kohle überzeugt hätte. Neuerdings haben Autenrieth und Tesdorpf festgestellt, daß beim Schütteln mit Blutkohle erhebliche Mengen Traubenzucker durch die Kohle absorbiert werden können; nur beim Behandeln des Harnes mit Tierkohle und Salzsäure (Bohmannsson) oder Tierkohle und Aceton oder Essigsäure (Michaelis und Rona) soll keine Absorption von Zucker eintreten. J. Bang empfiehlt 18 ccm Harn mit 2 ccm 95%igem Alkohol zu mischen, mit einer guten Messerspitze Blutkohle (Merck) zu schütteln und das Filtrat für die Reduktionsproben nach Fehling, Trommer, Almen zu verwenden. Die störenden Substanzen, auch geringe Mengen Eiweiß werden von der Kohle adsorbiert; es muß aber der vorgeschriebene Alkoholzusatz gemacht werden, sonst wird auch Zucker teilweise von der Kohle aufgenommen. Tierkohle und Salzsäure absorbiert etwas Zucker. Nach Mercks Bericht können durch die Glykokohle Merck, mit Säuren gereinigte Carbo sanguinis, störende reduzierende Stoffe bei der Harnzuckerbestimmung entfernt werden.

Nimmt man den Harn direkt, so vergesse man nicht, wenn er konzentriert ist, ihn zwei- bis dreifach zu verdünnen, denn es kann vorkommen, daß stark konzentrierter Harn bei den Proben

mit Fehlingscher oder Wismut-Lösung keine positiven Reaktionen gibt, wohl aber nach der Verdünnung.

Ich erwähne noch die von Ch. Porcher¹⁾ angegebene Vorbereitung des Harnes, die allerdings ziemlich umständlich ist und nur in besonderen Fällen in Betracht kommen wird. An Stickstoff reichen Harn versetzt man mit dem gleichen Volumen einer 40%igen Quecksilberoxydnitratlösung; nach dem Neutralisieren verdünnt man mit Wasser auf das 10fache Volumen, filtriert, entfernt das Quecksilber mit Zinkstaub oder Schwefelwasserstoff, engt am besten im Vakuum ein, versetzt mit Alkohol, filtriert vom Natriumnitrat ab und verjagt den Alkohol im Vakuum; die Lösung verwendet man für die Reaktionen.

Zu empfehlen ist und dem Quecksilbernitrats bei weitem vorzuziehen besonders bei den an Stickstoff usw. reichen Harnen die Verwendung von Mercuriacetat. Etwa 20 ccm Harn versetzt man mit 2—3 Tropfen Eisessig und mit 2—3 g feingepulvertem Mercuriacetat und bringt letzteres durch Schütteln oder Verreiben in einer Schale in Lösung. Man läßt 10—15 Minuten stehen, filtriert und schüttelt das Filtrat mit 3—4 g Zinkstaub nach dem Zusetzen von 1 Tropfen konz. Salzsäure und einer Spur Kupfersulfat, um das Quecksilber zu entfernen. Man läßt 15—20 Minuten stehen. Das Filtrat dient für die Vornahme der Reaktionen. Es muß wasserklar und frei von Quecksilber sein (Prüfung mit Zinnchlorür), außerdem wiederholt man die angegebene Behandlung mit Zinkstaub usw. (C. Neuberg²⁾). Vorsicht bei der Prüfung mit Ferrocyankalium-Essigsäure!

1. Methode Trommer.³⁾ (A. C. Becquerel.⁴⁾) (Älteste Probe.)

Sie wurde 1841 von Trommer unter E. Mitscherlichs Leitung angestellt; Salkowski änderte sie 1879 entsprechend (E. Ebstein a. a. O.).

Prinzip.

Die Probe beruht auf der Eigenschaft des Traubenzuckers, mit Kupferoxydsalz bei Gegenwart von Alkalilauge eine tiefblau gefärbte Lösung, Traubenzucker-Kupferhydrat $C_6H_{12}O_6 \cdot 5 Cu(OH)_2$ zu bilden, die beim Erwärmen gelbes Kupferoxydulhydrat $CuOH$ oder rotes Kupferoxydul Cu_2O abscheidet.

Man versetzt in einem Reagenzglase 5 ccm Harn zuerst mit der gleichen Menge 10%iger Natronlauge, — nach anderer Angabe mit $\frac{1}{5}$ Vol. — schüttelt und fügt unter Umschütteln tropfenweise von einer 5%igen Kupfersulfatlösung so lange hinzu, bis eine kleine Menge von Kupferoxydhydrat $Cu(OH)_2$ ungelöst bleibt (— ein größerer Überschuß veranlaßt Schwarzfärbung in der Hitze unter Bildung von Kupferoxyd —) und die Flüssigkeit etwas blaugrün oder trüb wird. (Eine anfangs bei Alkalizusatz etwa entstehende Trübung rührt von Erdphosphaten her. Alle echten Kohlenhydrate haben wie auch Glycerin die Eigenschaft, Kupferhydroxyd unter Bildung einer leicht löslichen Doppelverbindung zu lösen, so daß eine anfangs entstehende schöne Blaufärbung auf das Vorhandensein von Zucker schließen läßt; die Aldosen und Ketosen, die Zucker mit einer freien Carboxylgruppe, scheiden beim Erwärmen Kupferoxydulhydrat oder Kupferoxydul ab.) Nun erwärmt man die Mischung langsam höchstens bis zum **beginnenden** Sieden — also stärkeres Erhitzen vermeiden! —, am besten bloß an einer Stelle an der Oberfläche der Flüssigkeit. Bei zuckerhaltigem Harne bemerkt man schon vor dem Kochen an der erwärmten Stelle gelbe (Cuprohydrat $CuOH$) oder orangerote (Kupferoxydul) Streifen oder eine ebensolche wolkige Trübung, die sich ohne weiteres Erwärmen über die ganze Flüssigkeit erstreckt und sich, allerdings gewöhnlich

¹⁾ Bull. de l'Assoc. des Chim. de Sucr. et Dist. 1906. **24**. 153.

²⁾ Biochem. Zeitschr. 1910. **24**. 424.

³⁾ Ann. Chem. Pharm. 1841. **39**. 360.

⁴⁾ Ann. de Chim. et de Phys. 1831. **47**. 15.

sehr langsam, als rötlich feinkörniger Niederschlag von Kupferoxydul absetzt. Meistens bleibt das letztere suspendiert.

Bei geringen Zuckermengen, bei schwacher und undeutlicher Reaktion empfiehlt O. Mayer¹⁾ in folgender Weise vorzugehen. In einem graduierten Zylinder mischt man 20 ccm Harn und 10 ccm Natronlauge (15%ig) mit wenig 10%iger Kupfersulfatlösung; dann gießt man 10 ccm davon in ein Reagenzrohr *a*, setzt zu der im Zylinder verbliebenen Flüssigkeit eine weitere Menge Kupfersulfat bis zur schwachen Trübung und gießt nochmals 10 ccm in ein Glas *b* ab; zu dem Reste fügt man Kupfersulfat bis zur starken Trübung *c* und erhitzt nunmehr die 3 Proben 3 bis 5 Minuten im kochenden Wasserbade. Wegen der kupferlösenden Wirkung der in physiologischen Harnen vorkommenden organischen Stoffe wird in *a*, meist auch in *b* keine Reduktion eingetreten sein, während in *c* bei Gegenwart von Zucker deutliche Reduktion erfolgt ist. In diabetischen, insbesondere in zuckerreichen Harnen dagegen erfolgt die Reduktion gewöhnlich schon in *a*.

Das Deutsche Arzneibuch V läßt eine 15%ige Natronlauge und eine 10%ige Kupfersulfatlösung verwenden.

K. Simrock²⁾, ebenso J. Strassburger³⁾, Schwarz⁴⁾ u. a. empfehlen die in Amerika eingebürgerte Modifikation der Trommerschen Zuckerprobe von W. S. Haines.

W. S. Haines, G. P. Pond und R. W. Webster⁵⁾ geben eine abgeänderte Hainessche Lösung und ein verfeinertes Verfahren zum Zuckernachweis an. 5 g Kupfersulfat, 250 ccm Glycerin, 20 g Kalium- oder 14,3 g Natriumhydroxyd, destilliertes Wasser zu 1 Ltr. Das Kupfersulfat wird in der Wärme in 250 ccm Glycerin und 250 ccm Wasser gelöst, das Alkali getrennt davon in 200 ccm. Die Lösungen werden hierauf vereinigt und auf 1 Ltr. aufgefüllt.

5 ccm der Lösung werden gekocht und im schräggehaltenen Reagenzglas mit 10–20 Tropfen Urin versetzt, dessen Phosphate nach Zusatz von 5–6 Tropfen einer 5–10%igen Natronlauge ausgefällt und abfiltriert sind. Ist mehr als 0,1% Zucker vorhanden, so bildet sich an der Berührungsfläche von Reagens und Urin ein roter oder gelber Ring. Bei nur 0,03% bildet sich der Ring erst nach einigen Sekunden, spätestens nach 1 Minute; noch geringere Zuckermengen, die dann bereits physiologisch sind, lassen sich nicht mehr anzeigen.

Die Hainessche Probe soll scharf, zuverlässig sein und sich besonders für die ärztliche Praxis empfehlen (J. N. Schulz, Neubauer-Huppert, Analyse des Harnes 1910).

Eine Lösung mit Glycerinzusatz haben früher Criswell und Loewe angegeben. Shiebs Reagens auf Harnzucker ist eine abgeänderte Fehlingsche Lösung mit Glycerin.

Beurteilung.

Die Trommersche Probe ist bei Anwendung des Harnes direkt unsicher, ungenau, sie ist eben eine Reduktionsprobe überhaupt.

In der angegebenen Weise verläuft die Reaktion nur in ausgesprochenem diabetischem Harn. Besonders die 2 folgenden Umstände beeinträchtigen den Ausfall und den Wert der Probe. Enthält der Harn viel Zucker, hat man zu wenig Kupfersulfat zugegeben, also zu wenig Kupferoxydhydrat in Lösung gebracht, so daß nicht die ganze Menge des vorhandenen Traubenzuckers durch das Kupferoxyd oxydiert werden kann, so macht sich beim Erhitzen die zerstörende Wirkung des Alkalis auf den Zucker, Dunkelbraunfärbung, Karamelbildung, geltend; in dieser gefärbten Flüssigkeit ist einerseits die Erkennung eines gelben oder roten Kupferoxyduls sehr schwierig, andererseits kann das Karamel allenfalls reduziertes Kupferoxydul wieder in Lösung halten.

Enthält der Harn dagegen wenig Zucker, so kann man leicht zu viel Kupfersulfat zugesetzt haben und aus dem im Überschuß vorhandenen, von Zucker nicht reduzierten Kupferoxydhydrat entsteht beim Erhitzen neben den kleinen Mengen Kupferoxydul schwarzes Kupferoxyd, das ebenfalls das Kupferoxydul verdeckt. Ferner kommen im normalen Harn, wie im Fieberharn Substanzen vor (Harnsäure, Kreatinin, Harn- und Gallenfarbstoffe, Mucin, Glucuronsäureverbindungen), die einerseits eine Reduktion veranlassen, andererseits Kupferoxydul in Lösung zu halten vermögen (besonders Kreatinin, auch Ammoniak), so daß dieses nicht zur Abscheidung gelangt; es können im Harn sogar 0,5% Zucker übersehen werden, wenn sich die reduzierenden und Kupferoxydul lösenden Substanzen gerade decken. Man sei deshalb mit dem Zusatz von Alkali nicht ängstlich, da dadurch das Kreatinin in Kreatin umgewandelt wird, das den regulären Verlauf der Reaktion nicht oder nur wenig beeinträchtigt. Entsprechend vorbereiteter Harn oder 2–3fach verdünnter Harn beseitigt die erwähnten Störungen sehr wesentlich. Auch nach dem Einnehmen von Arzneimitteln (Salicylsäure, Chloralhydrat, Thallin, Salol, Benzosol, Morphin, Saccharin, Copaiva, Arbutin besonders) treten Färlungen auf. Bettmann beobachtete, daß eine bestehende Ausscheidung von Zucker durch Copaivabalsam erheblich gesteigert wird; dieses Arzneimittel kann auch alimentäre Glykosurie bewirken.

¹⁾ Archiv f. Hygien. 1918. 88. 184.

²⁾ Münch. med. Wochenschr. 1906. 53. 865.

³⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1905. 31. 612.

⁴⁾ Münch. med. Wochenschr. 1909. 54. 1184.

⁵⁾ Journ. of the Americ. med. assoc. 1919. 74. 301; Chem. Centralbl. 1920. 91. IV. 240.

Nach A. Gawalowski können Ortho- und Paraphenolsulfosäuren und deren Salze mehr oder weniger vollständig die Reduktion alkalischer Kupferlösungen durch Harnzucker verhindern.

Auf bloße Gelbfärbung der Flüssigkeit, sowie auf einen erst beim Erkalten auftretenden Niederschlag ist nichts zu geben; nur die noch vor dem Kochen eintretende Reduktion ist beweisend; deshalb ist auch weiteres Kochen fehlerhaft, da sich Kupferoxyd und Kupfer abscheiden, wodurch die Farbe schmutzig rotbraun wird. Die alte Trommersche Probe sollte man nur in der viel verbesserten Form von

2. Worm-Müller¹⁾ oder von Fehling in Anwendung bringen,

wobei sich die oben erwähnten Übelstände weniger bemerkbar machen, da im Überschuß vorhandenes Kupferhydroxyd durch das in diesen Lösungen vorhandene Kaliumnatriumtartrat durch Komplexbildung in Lösung gehalten wird.

Erforderliche Lösungen für das Verfahren von Worm-Müller.

1. 2,5%ige Kupfersulfatlösung.

2. Eine Lösung von 10 Teilen weinsaurem Kalinatron (Seignettesalz) in 100 Teilen 4%iger Natronlauge. Seignettesalzlösung verhindert eine Ausscheidung von schwarzem Kupferoxyd und Kupferhydroxyd, wie dies bei der Probe 1 beobachtet werden kann; neutrale weinsaure Salze, auch Glycerin lösen diese (Bildung komplexer Salze).

Man mischt von diesen Lösungen 1,5 ccm Kupfersulfat- mit 2,5 ccm der Seignettesalzlösung unmittelbar vor dem Gebrauche und erhitzt bis auf 70–80° (nicht ganz zum Kochen); auf die gleiche Temperatur erwärmt man 5 ccm des nötigenfalls verdünnten und filtrierten Harnes und bringt den letzteren in kleinen Portionen ohne Schütteln zur Kupferlösung. (Man kann auch den Inhalt der beiden Reagenzgläser zum Kochen erhitzen, dieses gleichzeitig unterbrechen, die Gläser 20–25 Sekunden stehen lassen und dann vermischen — ursprüngliche Methode). Eine mehr oder weniger rasch eintretende Entfärbung mit einer schmutzig gelbgrünen, gelblichen, bald rötlich werdenden Trübung oder Fällung von Kupferoxydul verbunden, deutet auf Zuckergehalt. Erhält man keine Reaktion, so muß, da bei geringem Zuckergehalte die Reaktion oft nur bei ganz bestimmter Menge stattfindet, die Probe mit steigenden Mengen von der Kupfersulfatlösung (2,5, 3,0, 3,5, 4,0 ccm) wiederholt, die Kupfermenge muß sukzessiv vermehrt werden, bis die Reaktion eintritt, oder bis die Flüssigkeit nicht mehr entfärbt wird, bis sie grün bleibt.

Am besten nimmt man diese Probe mit der eigentlichen Fehlingschen Lösung (s. d.) vor. Man erhitzt die unmittelbar vor dem Gebrauche aus gleichen Teilen Kupfer- und Seignettesalzlösung zusammen gemischte Flüssigkeit zum Kochen; es darf keine Veränderung der Lösung (Trübung oder Reduktion) eintreten; dann gibt man den nötigenfalls verdünnten und erhitzten Harn (bei stark konzentrierten, harnsäurereichen Harnen verdünnt man mit der gleichen bis 3fachen Menge Wasser), noch sicherer aber das Filtrat des wie angegeben vorbehandelten Harnes, das man gleichfalls erhitzt hat, zur Fehlingschen Lösung. (Der Harn oder das Filtrat darf nicht starksauer sein; die Mischung mit der Fehlingschen Lösung muß deutlich alkalisch sein.) Eine eintretende gelbliche bis gelblich-rötliche Färbung zeigt die Anwesenheit von Zucker an.

¹⁾ Archiv Physiol. 1882. 27. 107.

Zu empfehlen ist eine von Klopstock-Kowarsky angegebene Ausführung, bei der kleinere Mengen Harn und Reagens in Anwendung kommen. Je 10 Tropfen der Kupfer- und Seignettesalzlösung bringt man in ein Reagenzglas, mischt, verdünnt mit der 3fachen Menge Wassers und erhitzt zum Sieden. Zu der heißen Flüssigkeit bringt man 3–5 Tropfen des Harnes und erhitzt wieder zum Sieden. Wenn kein Zucker vorhanden ist, bleibt die blaue Farbe; bei geringem Zuckergehalte treten Veränderung der Farbe und die Ausscheidung des Kupferoxyduls beim nochmaligen Erwärmen ein. Bei reichlichem Zuckergehalte entsteht schon sofort nach Zugabe des Harnes eine gelbe oder gelbrote Färbung der Flüssigkeit und Ausscheidung eines reichlichen feinkörnigen Niederschlages von Kupferoxydul.

Beurteilung.

Diese Probe ist viel empfindlicher wie I., ferner kommen auch bei den angegebenen Temperaturen die das Kupferoxyd bei Siedetemperatur reduzierenden Substanzen in geringerem Grade zur Wirkung, besonders wenn man Harn und nötigenfalls auch das Reagens mit Wasser verdünnt hat. Das Kupferoxydul kann, veranlaßt durch Xanthinbasen, Harnsäure, Kreatinin auch als schmutzig gelbgrüne Trübung fein suspendiert bleiben; und zwar kann in dem einen Harn diese erwähnte Ausscheidung eintreten, bei einem anderen Harn, aber mit dem gleichen Zuckergehalte kann die rote Oxydulfarbe beobachtet werden; diese Verschiedenheit beruht eben auf der Relation zwischen Zucker und den genannten Stoffen. Auch kann, wenn die oxydullösenden Stoffe (Kreatinin) bei Gegenwart kleiner Zuckermengen vermehrt sind, die Oxydulausscheidung ganz verhindert werden.

Auch die anderen bei I. angegebenen Stoffe können die Reaktion beeinflussen, es kann deshalb auch diese Probe nicht als vollkommen eindeutig und stichhaltig bezeichnet werden.

Grünliche Färbung der Flüssigkeit ohne Abscheidung von Oxydul ist auf in größerer Menge vorhandene Harnfarbstoffe zurückzuführen; hier wie bei konzentrierten, phosphatreichen Harnen, die stärkere Niederschläge geben, ist eine Verdünnung des Harnes angezeigt; in allen derartigen abweichenden Fällen denke man zuerst daran, den verdünnten Harn einmal zu prüfen; das Entfernen der Phosphate (Haines, S. 276) ist zu empfehlen. Die grüne oder gelbe Verfärbung kann auch auf die Harnsäure, auf Kreatinin, Ammoniak zurückzuführen sein. Man verdünne dann den Harn wie angegeben.

Man denke noch daran, daß, wie schon erwähnt, Chloroform oder Formalin nicht ohne Einwirkung auf Fehlingsche Lösung sind. Für den Zuckernachweis bestimmter Harn sollte nie mit den genannten Mitteln konserviert werden; es eignet sich hierzu der Zusatz von 1% Kupfersulfat (s. S. 274).

Abänderungen zur Trommerschen und Worm-Müllerschen Probe bringen K. Sauer¹⁾, H. Ruoss²⁾, E. Salkowski³⁾, L. de Jager⁴⁾.

3. Die Böttger⁵⁾-A. Almén⁶⁾-E. Nylandersche⁷⁾ Wismutprobe.

Die Wismutprobe wurde 1857 von Böttger in Frankfurt a. M. angewendet; 1867 hat sie A. Th. Almén vereinfacht, E. Nylander zeigte 1883, daß der Gehalt der Alménschen Lösung an Alkali (Na_2O) nur etwa 8% betragen dürfe (E. Ebstein a. a. O.).

Prinzip.

Die Methode beruht auf der Reduktion von basischem Wismutnitrat in alkalischer Lösung durch Glykose zu schwarzem Wismutoxydul oder metallischem Wismut.

Die ursprünglich Böttgersche Probe, die in der Weise vorgenommen wurde, daß man 5 ccm Harn mit einer Messerspitze voll Wismutsubnitrat und einer Messerspitze Soda schüttelte und einige Minuten kochte, wird nun in der genauere Resultate gebenden Abänderung von Nylander ausgeführt.

Das Nylandersche Reagens, eine alkalische Lösung von Wismuttartrat, besteht aus 2 g Bismut. subnitric., die mit 4 g Seignettesalz verrieben und in 100 g 10%iger Natronlauge (1,115 spez. Gew. bei 19°) bei gelinder Wärme gelöst werden; die Lösung wird filtriert. Das Reagens hält sich in einem dunklen Glase und im Dunkeln aufbewahrt längere Zeit unverändert. Der Seignettesalzzusatz hat den Zweck, das durch Natronlauge ausgeschiedene $\text{Bi}(\text{OH})_3$ in Lösung

¹⁾ Münch. med. Wochenschr. 1916. 63. 350.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1917. 101. 131.

³⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1912. 79. 164.

⁴⁾ Zentralbl. inner. Mediz. 1912. 33. Nr. 25.

⁵⁾ Journ. prakt. Chem. 1857. 70. 432.

⁶⁾ Jahresb. Virchow-Hirsch 1869. 1. 103.

⁷⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1883/84. 8. 175.

zu halten. Ein empfohlenes sog. verstärktes Nylandersches Reagens mit etwa 8% Bismut. subnitric. führt zwar schneller zum Ziel, läßt aber auch leichter Fehlschüsse zu.

Das J. Loewesche¹⁾ Reagens, das in Frankreich benützt wird, ist eine filtrierte, heiß bereitete Lösung von 15 g Wismutnitrat in 30 g Glycerin, 70 ccm Natronlauge (1,34 = 30%) und 150 ccm Wasser.

Man erhält 5–10 ccm des selbstverständlich eiweißfreien Harnes nach Zugabe von $\frac{1}{2}$ –1 ccm Reagens — ein Überschuß schadet nicht — mindestens 3 Minuten im Kochen. J. Bang nimmt den, wie S. 274 angegeben, vorbereiteten Harn. Auch das Erhitzen 5 Minuten lang in kochendem Wasserbade wird empfohlen, doch weicht man am besten nicht von der alten Vorschrift ab. Bei Anwesenheit von Zucker tritt je nach dem Zuckergehalte Gelb-, Braunschwarzfärbung, sogar Schwarzfärbung der Flüssigkeit und des anfänglich rein weißen Erdphosphatniederschlages auf. Nach kürzerer oder längerer Zeit setzt sich ein schwarzer Bodensatz ab, die obenstehende Flüssigkeit klärt sich, bleibt aber gelb bis gelbbraun gefärbt. Beim Vorhandensein von nur sehr wenig Zucker wird der Harn nicht schwarz- oder schwarzbraun, sondern nur dunkler gefärbt. Das Reagens wird stets vor dem Gebrauche nach 10facher Verdünnung mit Wasser auf seine normale Beschaffenheit geprüft — gekocht; es darf keine Färbung, noch bräunliche oder schwarze Abscheidung stattfinden. Ein sehr geringer Zuckergehalt ist durch die grauweiße Färbung des Phosphatniederschlages (dunkler oder schwarzer Saum am oberen Rande des Niederschlages) erkennbar (doch s. unten). Bei kleinen Zuckermengen kocht man etwas länger, 5 Minuten.

Im alkalischen Harn mit viel Ammoniumkarbonat kann unter Umständen, da das Natriumhydroxyd gebunden wird und an seine Stelle Ammoniak tritt, vorhandener Zucker nicht erkannt werden; reichliche Zugabe des Reagens behebt den Zustand.

Beim Kochen der Mischung bemerkt man häufig ein recht lästiges Stoßen, wobei nicht selten ein Teil des Inhaltes des Glases herausgeschleudert wird; man kann dieses durch Zugeben einer kleinen Platinspirale und dadurch vermeiden, daß man nach dem erfolgten Aufkochen das Reagenzglas neben der Flamme des Brenners kochen läßt. Man wähle keine zu weiten Reagenzgläser.

G. Buchner empfiehlt hiezu die Reagenzröhren nach Hoare, die in ihrem oberen Teile eine kugelförmige Erweiterung haben, wodurch das unangenehme Überkochen ausgeschlossen wird.

Nach den eingehenden Versuchen von O. Hammarsten²⁾ führt man die Probe genau in der ursprünglich empfohlenen Weise durch Kochen während 3–5 Minuten aus.

Behrendt³⁾ empfiehlt die Probe zur annähernden quantitativen Bestimmung unter Verwendung einer Lösung von bestimmtem Gehalte an Wismutsubnitrat.

In einer anderen Modifikation läßt Brücke die Wismutprobe vornehmen. H. Kraus macht den Harn zur Entfernung der Phosphate mit Natronlauge stark alkalisch, filtriert, neutralisiert das Filtrat annähernd mit Essigsäure und prüft dann erst mit Nylanders Reagens. Man soll die undurchsichtige schwarze Flüssigkeit deutlicher erhalten, da die ausfallenden Phosphate von dem fein verteilten Wismutniederschlage mit niederreißen und die Flüssigkeit öfters nicht charakteristisch schwarz oder dunkel aussieht.

G. Bohmannsson hat als Störenfried das Urochrom erkannt; er läßt erst 10 ccm Harn mit $\frac{1}{5}$ Vol. 25%iger Salzsäure und etwa 1 Vol. feuchter Knochenkohle oder $\frac{1}{2}$ Vol. trockener vermischen, eine Minute schütteln und das Filtrat mit dem Reagens versetzen. Siehe auch A. Bang S. 274.

¹⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1883. 22. 498.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1906. 50. 36.

³⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1903. 29. 625.

Beurteilung.

Ein Zuckergehalt von noch 0,1% im Harn gibt sich durch einen deutlich positiven Ausfall der Probe zu erkennen, meistens sind auch 0,05% Traubenzucker im Harn nachzuweisen. Die Probe ist einfach in ihrer Ausführung.

Kennzeichnend ist vor allem das Auftreten eines schwarzen oder bei Gegenwart von viel Erdphosphaten fast schwarzen Phosphatsedimentes, wenn man nach beendetem Kochen 5 Minuten ruhig stehen läßt und dann beobachtet.

Harnsäure und Kreatinin wirken nicht ein, dagegen Glykuronsäuren und weiter vermehrte Anwesenheit von Ammoniumcarbonat, Indoxylschwefelsäure, Indican, Uroerythrin; eiweißhaltiger Harn färbt sich unter Bildung von Schwefelwismut durch Zersetzung von Eiweiß braunrot, beim Stehen scheidet sich ein Niederschlag von Schwefelwismut ab.

Fruchtzucker und Milchzucker geben die Probe positiv.

Antipyrin, Senna, Rheum, Salol, Benzosol, Terpentinöl (sogar nach Einatmen von solchem), Eucalyptustinktur, Sulfonal, Trional, Arbutin, größere Mengen Chinin wirken ebenfalls ein; der Arzt wird deshalb eine Medikation vor der Anstellung der Probe vermeiden; auch der Genuß von Gewürzen dürfte zweckmäßig zu unterlassen sein. Bei Anwesenheit von Santoninfarbstoff, von Phenolphthalein (als Abführmittel) kann der Harn eine rötliche Farbe annehmen. Sonst ist die Probe als bequeme für den Arzt mit der Bedingung zu empfehlen, daß sie noch durch eine andere kontrolliert wird. Im übrigen kann man sich durch einige Reaktionen von dem Fehlen oder von der Anwesenheit der genannten Stoffe leicht überzeugen. Besonders rheumhaltiger Harn wirkt störend und Zucker vortäuschend ein.

Nach Weitbrecht veranlaßt Formaldehyd, nach Einnehmen von Urotropin entstanden, positive Nylandersche Reaktion.

Nach Jothioneinreibung wurde bei einem Zuckerkranken mit der Wismutprobe kein Zucker gefunden, obwohl durch Polarisierung und Bestimmung nach Lehmann reichlich Zucker nachweisbar war (E. Strauss).

Man halte genau das Verhältnis zwischen Harn und Reagens ein. G. Buchner macht noch darauf aufmerksam, daß hie und da eine graue Färbung des Erdphosphatniederschlags eintreten kann, ohne daß Zucker vorhanden ist; er fand, daß ein vermehrter Gehalt an Uroerythrin diese Färbung veranlaßt. Ich fand bei Harnen, die an diesem Farbstoff reich waren, oft nicht allein eine Graufärbung, sondern sogar eine Schwärzung des Sedimentes. (Siehe S. 279 Urochrom und nachstehend.)

Man verwechsle ja nicht einen pentosenhaltigen Harn mit einem Harn, der Zucker enthält und umgekehrt!

Rosenberg¹⁾, der auf alle die Mängel dieser Probe aufmerksam macht, will diese Probe gar nicht mehr angewendet wissen; mit der nötigen Vorsicht und Umsicht ausgeführt, gibt die Probe uns aber doch wertvolle Aufschlüsse.

G. Bohmannsson hält sie nach Entfernung des Urochroms aus dem Harn — nach J. Bang — für viel wertvoller, wie die Kupferproben; ich schließe mich dieser Ansicht an.

Wie vorsichtig man bei der Beurteilung des Ausfalles der eben erwähnten Zuckerproben zu Werke zu gehen hat, mag dem Analytiker die nachstehende von G. Buchner²⁾ zusammengestellte Übersicht zeigen. Wir werden in wichtigen Fällen den Ausfall einer dieser Proben immer noch durch die Gärprobe, auch durch Polarisieren kontrollieren.

Übersicht:

I. Normale Harnbestandteile, die je nach der vorhandenen Menge mehr oder weniger reduzieren oder die Farbe des Erdphosphatniederschlags verändern.

Fehling:	Wismutprobe:
Brenzkatechin	Uroerythrin.
Gallenfarbstoffe.	(Harnfarbstoffe, insbesondere auch Urobilin,
Harnfarbstoffe.	wenn diese stark vermehrt sind, verursachen
Harnsäure.	Braunfärbung des Phosphatniederschlags).
Indican.	Urochrom (Bohmannsson, Bang).
Kreatinin.	
Urobilin.	
Urobilinogen.	

Spuren von Kohlenhydraten als: Glykose, Isomaltose, Pentosen, Milchzucker und tierisches Gummi, dann Glykuronsäureverbindungen (geringe Mengen).

Vermehrte Reduktion zeigen die konzentrierten und sog. hochgestellten Harn, auch Harn, die mäßige oder reichliche Mengen von Formelementen (Leukocyten, Blutkörperchen, Epithelien) enthalten.

¹⁾ Berl. klinisch. Wochenschr. 1906. 43. 1104.

²⁾ Ärztliche Rundschau 1899. Nr. 42—44. Separatabdruck.

II. Stoffe des anormalen Stoffwechsels, die reduzieren.

Fehling:	Wismutprobe:
—	Blutfarbstoffe.
—	Vermehrtes Hämatoporphyrin.
Homogentisinsäure } stark.	Homogentisinsäure } schwach.
Uroleucinsäure (?) }	Uroleucinsäure (?) } (Alkaptonharn)
Pentosen.	Pentosen (schwach).

Hexosen (Glykose, Lävulose, Isomaltose, Milhzucker), Erythrodextrin, Glykogen, Glykuronsäureverbindungen.

III. Stoffe, die die Zuckerreaktionen beeinflussen.

Fehling:	Wismutprobe:
Ammoniumcarbonat.	Ammoniumcarbonat.
Eiweiß (Biuretreaktion).	Eiweiß in größerer Menge.

IV. Reduzierende Stoffe, die dem Harn zur Konservierung zugesetzt werden.

Fehling:	Wismutprobe:
Formaldehyd.	—
Chloroform in größerer Menge.	—

V. Medikamente oder deren durch den Stoffwechsel gebildete Produkte.

Fehling:	Wismutprobe:
Acetphenetidin.	Antipyrin.
Antifebrin.	Arbutin.
Arbutin.	Benzoessäure.
Benzoessäure.	Benzosol.
Benzosol.	Chinin (größere Dosen).
Copaiva.	Chloral.
Chloral.	Indican.
Glykuronsäureverbindungen.	Eukalyptus.
Morphium.	Glykuronsäureverbindungen.
Phenacetin.	Jothion, Dijodoxypropan.
Saccharin.	Kairin.
Salicylsäure.	Rheum (auch Faulbaum und Cascara sagrada),
Salol.	Salol. Kubeben.
Sulfonal.	Senna.
Terpentin.	Sulfonal.
Thallin.	Terpentin.
Urethan.	Trional.

Überhaupt auch alle Arzneikörper, die in Form von Glykuronsäureverbindungen ausgeschieden werden. Hierzu kommen noch die Beobachtungen von H. Bechhold¹⁾, der fand, daß die Wismutprobe bei Anwesenheit von Quecksilber oder Chloroform im Harn bedeutend gehemmt werden kann und der deshalb verlangt, daß jeder auf Zucker zu prüfende Harn nach mindestens zwei Methoden zu untersuchen ist. Zeidlitz²⁾, dann M. E. Rehfuß und P. B. Harolt³⁾ haben bei richtiger Ausführung der Probe die Angaben von Bechhold aber nicht bestätigen können.

4. Das Verhalten des Harnes bei der Polarisation. S. 296 und 290—296.

5. Die Gärprobe.

Prinzip.

Der im Harn vorhandene Zucker wird durch Hefe vergoren und in Alkohol und Kohlensäure gespalten; in geeigneten Apparaten wird die Kohlensäure gesammelt und aus dem Volumen des Gases die vorhandene Traubenzuckermenge bestimmt. $C_6H_{12}O_6 = 2 C_2H_5O + 2 CO_2$.

Die Anstellung der Gärungsprobe des diabetischen Harnes scheint auf den Edinburger Arzt F. Home 1780 zurückzugehen, später wurde sie 1835 von C. G. Lehmann ausgeführt und diagnostisch benutzt, 1885 wies aber Max Einhorn von neuem auf die wenig aufgesuchte oder vergessene Probe hin. E. Ebstein a. a. O.

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1905. 46. 372.

²⁾ Festschrift für O. Hammarsten 1906.

³⁾ Journ. of Biolog. Chem. 1909. 7. 267.

Vorbereitung des Harnes für die Gärprobe.

Es muß möglichst frischer Harn ohne jede Vorbehandlung verwendet werden.

Konservierter Harn (mit Thymol, Formalin, Carbolsäure, Fluornatrium usw. versetzter Harn) ist für diese Probe nicht brauchbar. Salicylsäure enthaltender Harn, Harn nach Gebrauch von Arbutin (Bärentraubenblätter, Extr. Myrtilli) eignet sich ebenfalls nicht für die Gärprobe. Mit Chloroform konservierter Harn muß durch Erwärmen und unter Durchsaugen von Luft vom Chloroform befreit werden.

Der Harn muß klar sein, von saurer, höchstens neutraler Reaktion; alkalischer Harn ist mit Weinsäure anzusäuern und vorsichtig zu erhitzen, um etwa gebildete Kohlensäure (Ammoniumcarbonat) erst zu entfernen. Ammoniakalisch gewordene Harne sind kaum zu verwenden, da man daran zu denken hat, daß bei der ammoniakalischen Gärung der Zucker zerstört werden kann; solche Harne müßte man ebenfalls vorher kochen und ansäuern. Harn, der Blut, Eiter, Eiweiß enthält, eignet sich für die Gärprobe nicht. Bei der Anstellung des Versuches muß man mit peinlichster Reinlichkeit und Sorgfalt verfahren.

Ein Gärungsversuch, bei dessen Abschluß der Harn ammoniakalisch geworden ist, nicht mehr sauer oder neutral reagiert, ist als mißlungen zu verwerfen (Salkowski).¹⁾

Ausführung.

Am zweckmäßigsten verfährt man unter Verwendung des Lohnstein'schen Apparates in der bei der quantitativen Bestimmung angegebenen Weise (S. 300), da die Instandsetzung dieses Apparates nicht mehr Zeit erfordert, wie die der anderen, nur für qualitative Proben tauglichen Gärungssaccharometer, Gärungsröhrchen.

Im übrigen kann man die qualitative Gärprobe auch in einem der verschiedenen gewöhnlichen Apparate in folgender Weise vornehmen:

Man verreibt ein etwa haselnußgroßes Stück am besten einer stärkefreien Preßhefe (oder 0,5—1 g), die vollkommen zuckerfrei sein muß — man kann auch die lange haltbare Trockenhefe, von deren Brauchbarkeit man sich vorher überzeugt hat, verwenden — in einem kleinen Mörser mit 1—2 ccm Wasser und fügt diesen Hefebrei zu etwa 25 ccm des mit einem Tropfen Weinsäurelösung angesäuerten Harnes; alkalischer Harn wird bis zur sauren Reaktion mit Weinsäure versetzt. Mit diesem hefehaltigen Harne füllt man das nachstehend abgebildete Gärgläschen — das Rohr *a* hat am besten einen inneren Durchmesser von 12 mm — (Fig. 41) (Einhorn) derart, daß das Rohr *a* vollkommen gefüllt ist, so zwar, daß sich beim Aufstellen des Apparates oben in der Röhre keine Spur von Luft zeigt. Der horizontale Teil der Röhre bei *b* kann zweckmäßig, besonders bei Harn mit geringen Zuckermengen, durch einige Tropfen Quecksilber abgeschlossen werden. Nun stellt man den Apparat an einen ungefähr 30° warmen Ort 12—24 Stunden beiseite. Bei Anwesenheit von Zucker wird sich schon im Verlaufe einiger Stunden in dem geschlossenen Rohre *a* Kohlensäure ansammeln, da der Zucker durch die Gärung in Alkohol und in Kohlensäure zerlegt wird; nach 24 stündigem Stehen ist der Versuch beendet. Zur Prüfung der Reinheit und Wirksamkeit der Hefe beschickt man unmittelbar nach der Füllung des Röhrchens mit dem zu prüfenden Harne ein zweites Gärungsröhrchen mit durch Weinsäure angesäuertem Wasser und Hefe und ein drittes mit einer ebenfalls angesäuerten, etwa 0,5—1%igen Traubenzuckerlösung und Hefe. Die Brauchbarkeit der Hefe ist erwiesen, wenn im zweiten Gärungsröhrchen sich kein Gas (Kohlensäure), im dritten aber solches in reichlicher Menge ansammelt. Nun findet man aber stets auch im Kontrollröhrchen mit der Hefemischung allein eine kleine Gasblase vor, da fast jede Hefe etwas Kohlensäure in der genannten Zeit entwickelt. Diese Tatsache erschwert bei minimalem Zuckergehalte des Harnes das Urteil, andererseits kann in der Flüssigkeit des Röhrchens auch Kohlensäure absorbiert bleiben. Nach E. Salkowski²⁾ kann man auf folgende Weise diese Unsicherheit beheben. Man stellt die gefüllten Gärungsröhrchen von vornherein in ein Becherglas von entsprechenden Dimensionen und füllt das Becherglas mit Wasser von etwa 30° so weit an, daß die Kuppe der Röhrchen noch von Wasser in dünner Schicht bedeckt wird, setzt dann das Becherglas 10—20 Stunden einer erhöhten Temperatur — im Thermostaten bis 38° C — aus und bringt nach dieser Zeit das Becherglas mit den Gärungsröhrchen auf ein stark siedendes Wasserbad, wobei man die Temperatur an einem in das Becherglas gestellten Thermometer beobachtet. Man erhitzt bis 70° und läßt das Becherglas noch etwa 1/2 Stunde auf dem Wasserbade stehen. Man wird mit aller Sicherheit unterscheiden können,

¹⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1905. 42. 48; Festnummer f. C. A. Ewald.

²⁾ l. c.

welches das Kontrollröhrchen ist und welches Röhrchen den mit $\frac{1}{10}$, sogar mit $\frac{1}{20}$ % Zucker versetzten Harn enthält. Wenn man die Röhrchen bis zum vollständigen Erkalten an der Luft stehen läßt, dann nimmt das Gasvolumen in beiden Röhrchen wieder ab, die Kohlensäure wird mit der Zeit absorbiert.

Diese Kontrollprobe wird man nur bei der Verwendung der Gärungsröhrchen anstellen.

Um den eben besprochenen Mißstand anderweitig zu beheben, hat O. Schumm¹⁾ ein Gärungsröhrchen verwendet, dessen Konstruktion und Zweck aus der Fig. 42 leicht ersichtlich ist.

Um das Röhrchen zu füllen, gießt man bei offenem Hahne so viel Flüssigkeit in den kurzen Schenkel des Apparates hinein, daß der längere Schenkel bis etwas über die kugelige Erweiterung hinaus gefüllt ist. Man neigt den Apparat dann so, daß etwas von der Flüssigkeit oben durch den Hahn austritt, läßt etwa vorhandene Luftbläschen mit entweichen und schließt jetzt den Hahn.

Man erzielt so leicht und schnell die schaumfreie Füllung des längeren Schenkels. Da der unmittelbar unter dem Hahne befindliche Rohrteil so eng ist, daß selbst eine sehr kleine Menge Gas darin eine beträchtliche Längenausdehnung hat, so läßt sich leicht und sicher beurteilen, ob im Röhrchen I mehr Gas gebildet ist, als im Kontrollröhrchen II, d. h. ob der Ausfall der Probe als positiv anzusehen ist oder nicht. Selbstverständlich muß man gleiche Mengen Hefe für die Füllung der beiden Röhrchen verwenden.

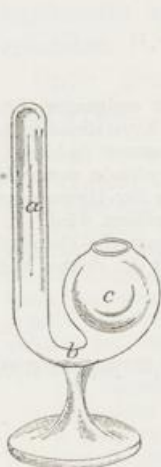


Fig. 41.



Fig. 42.

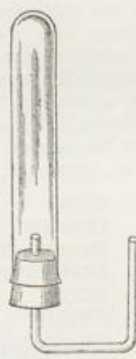


Fig. 43.

Die Hefe ist jetzt leicht und überall in dem brauchbaren Zustande zu erhalten. Um etwaige vorhandene gärunsfähige Substanzen zu entfernen, verreibt man nach Schotten die Hefe in einer Schale mit Wasser, gibt mehr Wasser hinzu und rührt um. Nach dem Absetzen der Hefe gießt man das Wasser ab und wiederholt diese Behandlung nochmals. Man bringt schließlich den Hefebrei auf ein Filterchen, wäscht mit Wasser aus, läßt letzteres abtropfen und trocknet durch Pressen zwischen Fließpapier die Hefe, die nun zum Gebrauche geeignet ist.

In Ermangelung dieser Apparate kann man sich der von E. Moritz angegebenen Form (Fig. 43) einer Gärungsvorrichtung bedienen, die man sich leicht selbst herstellen kann.

Das etwa 1 cm weite Reagenzglas füllt man mit Harn-Hefengemisch (50 ccm Harn und 1 g zuckerfreie Hefe) vollständig an und verschließt das Reagenzglas mit einem Kautschukstopfen, der mit einem engen U-förmig gebogenen Rohre versehen ist, derartig, daß keine Luft im Glase vorhanden ist und eindringt. Den Apparat stellt man in ein Becherglas in der in der Figur angegebenen Stellung und läßt bei 20–30° C gären. Man stellt auch hier einen solchen Apparat mit Wasser und Hefe und einen anderen mit einer 0,2%igen Traubenzuckerlösung mit Hefe zur Kontrolle auf.

Zum Nachweise, daß das entwickelte Gas Kohlensäure ist, füllt man den offenen Schenkel bis zum Überlaufen mit Kalilauge, verschließt fest mit dem Daumen und schüttelt um; die Gasblasen verschwinden vollständig, wenn sie aus Kohlensäure bestanden.

¹⁾ Münch. med. Wochenschr. 1907. 54. 1235. Die Gärungsröhrchen sind von der Präzisionsglasbläserei Dittmar u. Vierth in Hamburg 15, Spaldingstraße 148, zu beziehen.

Will man das andere gebildete Gärungsprodukt, den Alkohol, nachweisen, so gibt man die Flüssigkeit im Apparate in ein Kölbchen, destilliert etwa 10 ccm ab und prüft das Destillat mit Jod in Jodkaliumlösung und Natronlauge; es bildet sich Jodoform, wenn Alkohol vorhanden ist. Der Nachweis von Alkohol wäre nicht unwichtig, zumal mit Beziehung auf die Mitteilungen von Neuberg und Hildesheimer. (Siehe bei der quantitativen Bestimmung des Zuckers durch Gärung [S. 300]).

Endlich ist noch empfohlen worden, den Harn vor dem Versuche, um ihn von absorbierter Luft zu befreien, 10 Minuten lang zu kochen. Diese Vorsichtsmaßregel ist unnötig.

Beurteilung.

Die Gärprobe ist entschieden die sicherste Probe; durch deren positiven Ausfall wird der nach einer der vorstehenden und folgenden Proben gewonnene positive Befund bestätigt, da sie eine Verwechselung mit irgendeinem anderen normalen oder pathologischen Harnbestandteil nicht gestattet. Höchstens könnte die selten vorkommende Lävulose in Betracht kommen, die sich aber durch ihre Linksdrehung unterscheidet.

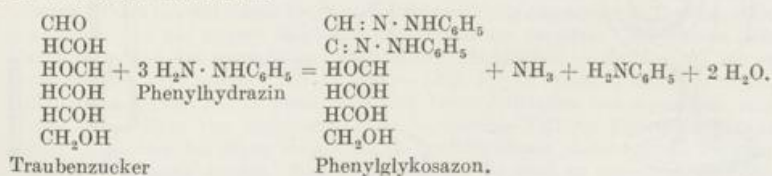
Ein Zuckergehalt von 0,05% kann mit der Gärprobe noch deutlich nachgewiesen werden.

Die früher als einziger Nachteil dieser Probe angeführte längere Dauer des Versuches kann bei Benützung eines auf 30—35° gehaltenen Brutschrankes nun wesentlich abgekürzt werden; mit dem Lohnsteinschen Apparate ist nach 5—6stündigem, wohl besser aber 10stündigem Stehen bei dieser Temperatur der Zuckergehalt abzulesen.

6. Die Phenylhydrazinprobe nach E. Fischer.¹⁾

Prinzip.

Beim Kochen einer Traubenzuckerlösung mit Phenylhydrazin in essigsaurer Lösung entsteht eine aus goldgelben, zu Büscheln und Garben vereinigten gelben Krystallnadeln bestehende Ausscheidung von β -Phenylglukosazon. Diese Verbindung kommt dadurch zustande, daß sich zunächst der Traubenzucker als Aldehyd mit dem Phenylhydrazin unter Abspaltung von 2 Atomen Wasserstoff zu einem Hydrazone kondensiert, wobei die der Hydrazongruppe benachbarte sekundäre Alkoholgruppe CHOH in die CO-Gruppe übergeführt wird, die nun mit einem weiteren Mol. Phenylhydrazin unter Entbindung von 2 At. Wasserstoff β -Phenylglukosazon bildet; der Wasserstoff wird aber nicht als solcher frei, sondern spaltet ein drittes Mol. Phenylhydrazin in Ammoniak und Anilin.



Ausführung.

a) Nach E. Fischer und R. v. Jaksch.²⁾

50 ccm (oder größere Mengen) eiweißfreien Harnes werden mit 1—2 g reinem, salzsaurem Phenylhydrazin und 2—4 g essigsaurem Natrium $\frac{1}{2}$ —1 Stunde lang in einem Becherglase in einem kochenden Wasserbade unter häufigerem Umschütteln erwärmt. (Nach E. Fischer kann man 10—20 Tropfen reines Phenylhydrazin und ebensoviel 50%ige Essigsäure nehmen; v. Jaksch nimmt 2 Messerspitzen salzsaures Phenylhydrazin und 3 Messerspitzen Natriumacetat zu 6—8 ccm Harn; erwärmt wird, wie oben angegeben.) Das Becherglas wird in kaltes Wasser gestellt und einige Stunden stehen gelassen; es scheidet sich das Phenylglykosazon krystallinisch oder in amorphen Massen ab. Man untersucht diesen Niederschlag mikroskopisch bei 200—300facher Vergrößerung; es sind die charakteristischen

¹⁾ Berl. Bericht. 1884. 17. 579. 1887. 20. 3058 und 1889. 22. 50.

²⁾ Zeitschr. klin. Mediz. 1886. 11. 20.

Krystalle leicht zu erkennen (Fig. 44, Nadeln, Sterne, auch garbenförmige Krystalle). Konzentrierter Harn ist mit gleichen Teilen Wasser zu verdünnen. Alkalischer Harn muß mit Essigsäure angesäuert werden. Einen amorphen Niederschlag filtriert man ab, löst ihn auf dem Filter mit heißem 96%igem Alkohol, versetzt das Filtrat mit wenig Wasser, entfernt den Alkohol durch vorsichtiges Erhitzen, wobei man das Phenylglykosazon in den charakteristischen intensiv gelben, bei 204 bis 205° schmelzenden, oft büschelförmig vereinigten Nadeln gewinnen kann, die noch bei dem Vorhandensein von 0,05% Zucker im Harn entstehen.



Fig. 44.

Unter dem Mikroskope betrachtet erscheinen die Krystallnadeln gelbgrün.

b) Nach A. Neumann-Cipollina¹⁾.

Neumann verwendet ein besonderes graduiertes Reagenzrohr²⁾ (Fig. 45). 5 ccm Harn werden mit 2 ccm Essigsäuremischung (Eisessig mit 50% Natriumacetat vermischt) und 2 Tropfen reinem Phenylhydrazin versetzt; der Inhalt des Glases wird bei möglichst horizontaler Lage und Haltung des Glases in 1 Minute bis auf 3 ccm eingedampft. Man kühlt unter der Wasserleitung rasch ab, kocht nochmals auf und kühlt wieder ab (Margulies³⁾). Ist die Probe negativ ausgefallen, so verdünne man mit Wasser, das mit Natronlauge versetzt ist, bis auf 5 ccm; es fällt hie und da noch eine Spur mikroskopisch erkennbarer Nadeln aus.

Die betreffenden Mengen (3, 5, 7 ccm) sind am Glase eingezeichnet. Cipollina verfährt in ähnlicher Weise.

5 Tropfen reines Phenylhydrazin, 1,2 ccm Eisessig oder 1 ccm 50%iger Essigsäure und 4 ccm Harn läßt man in einem gewöhnlichen Reagenzglas über kleiner Flamme unter beständigem Umschütteln kochen. Man fügt 4—5 Tropfen Natronlauge (1,16 spezifisches Gewicht) hinzu und läßt erkalten. Die Schnelligkeit der Krystallbildung hängt von der Dichte des Harnes ab.

c) Nach E. Kraft⁴⁾.

Man stellt das Reagenzglas mit 5 ccm Harn, 5 Tropfen reinem Phenylhydrazin und 10 Tropfen Eisessig 1 Stunde lang in das kochende Wasserbad ein. Das Vorkommen von 1—3 Glykosazonkrystallen im Gesichtsfelde bei 400facher Vergrößerung darf nicht als ein pathologischer Befund angesehen werden.

d) Nach E. Salkowski⁵⁾.

Zum Nachweis kleiner Zuckermengen. 5 ccm Harn werden mit 0,5 ccm Eisessig und 20 Tropfen Phenylhydrazin versetzt und genau 1 Minute gekocht. Hierauf fügt man 5 Tropfen 15%iger Natronlauge hinzu, erwärmt nochmals leicht, läßt abkühlen, verdünnt den Inhalt des Glases mit $\frac{3}{4}$ Vol. Wasser, erhitzt zum Sieden und läßt über Nacht stehen. Bei $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{20}$ % Zuckergehalt hat sich dann ein schwefelgelbes, stets krystallinisches Sediment gebildet, das mikroskopisch betrachtet aus Nadelbüscheln besteht.



Fig. 45.

¹⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1901. 27. 334.

²⁾ Zu haben bei den Vereinigten Fabriken für Laboratoriumsbedarf, G. m. b. H., Berlin N. 39.

³⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1900. 39. 881.

⁴⁾ Privatmitteilung und Apoth.-Ztg. 1905. 20. 383.

⁵⁾ Arb. aus d. patholog. Instit. Berlin. 1906. 587.

Ähnlich verfährt Eschbaum.

Es sind noch eine Reihe anderer Abänderungen angegeben, so von A. Kowarski¹⁾, C. Schwarz²⁾, E. Riegler³⁾, R. Rank⁴⁾, A. Schmidt⁵⁾, R. Grünwald⁶⁾, Ch. Porcher⁷⁾, Langworth⁸⁾ u. a., denen wesentliche Vorteile gegenüber der alten Vorschrift nicht zukommen.

Beurteilung.

Milchzucker, Pentose, Lävulose, Maltose geben auch die Osazone. Gepaarte Glykuronsäuren geben diese Probe nicht. Es ist nur die Möglichkeit in Betracht zu ziehen, daß diese beim Behandeln mit Säuren gespalten werden und daß die freigewordene Glykuronsäure dann eine mit dem Glykosazon zu verwechselnde Verbindung gibt; in der Tat wird die nach Mentholgenuß entstehende Menthoglykuronsäure leicht in der erwähnten Weise gespalten. Bei Anwesenheit von Glykuronsäuren sollen die Nadeln kürzer und dicker sein. Das Osazon des Traubenzuckers (0,2 g Osazon in einer Mischung von 4 ccm reinem Pyridin und 6 ccm absoluten Alkohols im 100 mm-Rohr polarisiert) dreht 1° 30' links, das Pentosazon ist optisch inaktiv, schmilzt bei 166—168°, nach Neuberg (S. 263) bei 157—160°, das Maltosazon dreht 1° 30' rechts (P. Mayer), das Lactose-Phenylosazon ± 0. Der Schmelzpunkt des Glukosazons (ganz rein) liegt bei 204°, der des Galaktosazons bei 174°, des Isomaltosazons bei 152°, des Maltosazons bei 205°, des Laktosazons bei 197°.

Bemerkt sei, daß das Glukosazon so gut wie unlöslich im Wasser von 60° ist, Pentosazone lösen sich hierbei vollständig.

Über den Wert der Phenylhydrazinprobe sind die Ansichten noch immer geteilt; man soll aus manchem Harn dem Glykosazon ähnliche Krystalle erhalten, während nach anderer Anschauung in zweifelhaften Fällen die Phenylhydrazinprobe einen sicheren Anhaltspunkt gibt und die Empfindlichkeitsgrenzen bei nicht konzentrierten Harnen im Durchschnitt bei 0,03% liegt. Der Niederschlag muß bei Verwendung von etwa 5—10 ccm Harn reichlich sein und mikroskopisch zum weitaus größten Teile aus büschelförmig oder drusig angeordneten gelben Nadeln sich zusammengesetzt erweisen. Ich halte diese Probe für eine gute; sie darf natürlich nicht als allein ausschlaggebend betrachtet werden; ihr Ausfall ist vielmehr durch den Nachweis von Zucker nach einem anderen Verfahren noch zu stützen.

Am besten verfährt man nach der von Fischer und v. Jaksch angegebenen Ausführung. Das reine Phenylhydrazin muß vollkommen rein, hellgelb, fast weiß sein. Ein unnötiger Überschuß von Phenylhydrazin ist zu vermeiden. Bei zu starkem Eindampfen, besonders bei Anwendung des häufig empfohlenen, aber weniger gut geeigneten Eisessigs (statt 30—50%iger Essigsäure zum Lösen des Phenylhydrazins) kann man Krystalle von Acetylphenylhydrazin erhalten, die schon zu mancher Verwechslung Anlaß gegeben haben. Auch denke man daran, daß der Schmelzpunkt der nicht vollkommen reinen Osazone niedriger liegt, als der der ganz reinen (C. Neuberg, E. Sal-kowski). Die Reinigung wäre demnach stets so oft zu wiederholen, bis sich keine Änderung im Schmelzpunkte mehr zeigt. Hierzu wird das Osazon in möglichst wenig Alkohol gelöst und unter Umrühren mit einem größeren Überschuß von Wasser versetzt; das Osazon scheidet sich in feinen Krystallnadeln aus; nach dreimaligem Umkrystallisieren ist es meist rein.

7. Probe von F. Penzoldt⁹⁾ und E. Fischer.¹⁰⁾

Man versetzt stark alkalisch gemachten Harn mit der gleichen Menge einer frisch bereiteten, schwach alkalischen (Alkalizusatz) Lösung von Diazobenzolsulfosäure (1:60). Zuckerhaltiger Harn wird zuerst gelbrot, dann bordeauxrot, bei starkem Zuckergehalt dunkelrot und undurchsichtig; die rote Färbung besitzt dabei einen bläulichen Ton; nach ungefähr ¼stündigem Stehen gibt zuckerhaltiger Harn einen rötlichen Schaum, normaler einen gelben oder bräunlichen. Ein Streifen Papier färbt sich im Zuckerharnen rosenrot, im normalen gelb.

¹⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1900. **37**. 1095.

²⁾ Pharm. Ztg. 1888. **33**. 465.

³⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1901. **27**. 40; 1903. **29**. 266.

⁴⁾ Zeitschr. österr. Apoth. Ver. 1905. **43**. 1038.

⁵⁾ Apoth.-Ztg. 1907. **22**. 533.

⁶⁾ Münch. med. Wochenschr. 1907. **54**. 730.

⁷⁾ Bull. d. l'Assoc. des Chim. de Suer. et Dist. 1906. **24**. 155.

⁸⁾ Brit. med. Journ. 1907. Nr. 19. 2427.

⁹⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1883. **20**, Nr. 14; Zeitschr. analyt. Chem. 1883. **22**. 466.

¹⁰⁾ Berl. Bericht. 1883. **16**. 657.

Beurteilung.

Die Probe ist für Zucker zwar zuverlässig, Eiweißstoffe, Acetaldehyd, Aceton usw. verhalten sich nach Petri ähnlich.

Da die Diazobenzolsulfosäure explosibel ist, so bewahrt man sie unter Chloroform in einer dunklen Flasche auf; beim Gebrauche gießt man das Chloroform ab, wägt von der Säure ab und gibt den Rest mit dem Chloroform in die Flasche zurück.]

8. Die Moore¹⁾-Hellersche²⁾ Probe.

Der Harn wird mit $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{3}$ Vol. Natron- oder Kalilauge stark alkalisch gemacht und 2—3 Minuten gekocht; bei Zuckergehalt färbt er sich dunkelgelb bis dunkelbraun. Pelouze gibt die gleiche Probe an. (Umwandlung des Zuckers in braungefärbte Huminsubstanzen neben Milchsäure).

Bouchardat verwendet Kalkmilch oder gepulverten frisch gelöschten Kalk.

Beurteilung.

Ist keine scharfe Reaktion; bei einem Gehalte an Zucker unter 0,5% erfolgt zudem keine deutliche Ausscheidung; mucinhaltiger Harn, teilweise auch normaler Harn kann sich ebenfalls dunkel färben.

9. Probe von M. Rubner.³⁾

Man versetzt 10 ccm möglichst frischen Harn (konzentrierter Harn ist mit dem gleichen Volumen Wasser zu verdünnen) mit Bleizuckerlösung, bis keine Fällung mehr entsteht, filtriert und fügt bis zur bleibenden Fällung zu 5—10 ccm des Filtrates vorsichtig Ammoniak. Erwärmt man durch Eintauchen in heißes Wasser (auf etwa 80°, nicht höher, nicht kochen!), so nimmt bei Anwesenheit von Zucker der Niederschlag eine rosenrote oder fleischrote Färbung an.

Beurteilung.

Die Sicherheit der Probe, die ursprünglich von Brücke (1858) stammt, ist nicht groß, da mit 0,2% Zucker kaum Reaktionen erhalten werden. Besser ist die Probe in folgender Ausführung.

10. Probe mit Bleiessig und Ammoniak.

Man versetzt Urin mit einigen Tropfen Ammoniak (Überschuß) und einigen Tropfen Bleiessig. Der entstandene weiße Niederschlag färbt sich bei vorsichtigem Erhitzen (nicht zum Kochen!) fleischfarben bis purpurfarben (Schmidt).

Beurteilung.

Die beiden Proben beruhen auf der Bildung von Bleisaccharat, das sich beim Erwärmen je nach dem Zuckergehalte fleischfarben bis rosenrot färbt.

Nach F. Penzoldt und L. Friedländer soll die Probe zuverlässig und sicher sein; man soll noch 0,1% Traubenzucker nachweisen können.

11. Probe mit Nitropropioltabletten.

Diese von der Firma H. A. Teusch in Köln-Ehrenfeld in den Verkehr gebrachten Tabletten bestehen aus Orthonitrophenylpropionsäure und Natriumcarbonat. Die Anwendung von diesem Reagens (Baeyers Reagens⁴⁾ auf Glykose) zur Prüfung von Harn auf Zucker stammt von Hoppe-Seyler.

Prinzip.

Es werden zwei Moleküle der Orthonitrophenylpropionsäure bei Gegenwart von Alkali und Traubenzucker (als Reduktionsmittel) unter Bildung von Kohlensäure zu Indigo verwandelt.

Ausführung.

Nach F. v. Gebhardt⁵⁾ nimmt man 10—15 Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit, verdünnt mit 10 ccm Wasser, setzt die Tablette zu und erwärmt 2—4 Minuten lang vorsichtig (mäßiges Kochen). Beim Vorhandensein von Zucker wird die Flüssigkeit zuerst grünlich, dann dunkelindigoblau gefärbt.

¹⁾ The Lancet. 1844. II.

²⁾ Archiv f. Mikroskop. u. mikroskop. Chem. 1844. I. 212. 292; 4. 310.

³⁾ Zeitschr. Biolog. 1884. 20. 397.

⁴⁾ Berl. Bericht. 1880. 13. 2260 (Baeyer); Zeitschr. physiol. Chem. 1892. 17. 83 (Hoppe-Seyler).

⁵⁾ Münch. med. Wochenschr. 1901. 47. 24.

Beurteilung.

Das Reagens muß immer im Überschuße vorhanden sein, sonst tritt die Bildung des Indigos nicht ein und die Flüssigkeit bleibt, da Indigoweiß entsteht, farblos; deswegen verdünnt man; man kann auch noch mit Chloroform schütteln, das die Indigofarbe aufnimmt.

Die Methode ist unsicher und kann zu Täuschungen Anlaß geben. Dies bestätigen Amrein, Arnold, Behrens, Douglas, Falk, F. Wolter, Zunz.

Nach Weitbrecht soll man 5 g o-Nitrophenylpropionsäure in einem Porzellanmörser so lange abwechselungsweise mit 1—2 ccm Wasser und 1—2 ccm 10%iger Natronlauge verreiben, bis Lösung eingetreten ist; man braucht im ganzen etwa 8 ccm. Nach dem Filtrieren und Auffüllen erhält man ein hellgelbes Reagens. Auf 5 ccm Reagens soll nicht mehr als 1 ccm Harn genommen werden. Eine geringe Farbenänderung ins Grünliche ist kein positiver Ausfall der Probe. Bottu bringt eine weitere Modifikation dieser Probe; Quirini nimmt eine 0,5%ige Lösung von Ortho-nitrophenylpropionsäure in Natronlauge; Ruini verfährt ähnlich.

12. Methylenblauprobe.

- a) 1 ccm Harn wird mit 10 ccm Wasser verdünnt und hievon 1 ccm mit 1 ccm Natronlauge und 1 ccm wässriger, 0,1%iger Methylenblaulösung versetzt; man gibt 2 ccm Wasser zu und kocht. Bei Glykoseanwesenheit erfolgt Entfärbung (Neumann-Wender¹).
- b) Das Filtrat des erst mit Bleiacetat, dann mit Bleiessig behandelten Harnes, 5 ccm, wird zu 5 ccm einer Methylenblaulösung (1:300), die mit 1 ccm einer 10%igen Kaliumhydroxydlösung erhitzt wurde, hinzugegeben. Entfärbung bei Zuckeranwesenheit (A. Fröhlich).

Ihl, Herzfeld, Le Goff, Liebers, J. F. Muter und Gertrud Woker haben Änderungen dieser Probe angegeben oder sich mit dieser beschäftigt.

Beurteilung.

A. Ferranini, Hocke finden die Methylenblaumethode genau. Nach den eingehenden Versuchen von F. Utz² ist Methylenblau kein geeignetes Reagens zum Nachweis von Zucker im Harn. Zersetzter Harn, Glykuronsäuren, Aceton, indikanreiche Urine, Harn nach Einnehmen von Hexamethylentetramin zeigen auch die Reaktion.

13. Safraninprobe s. bei der Methode zur quantitativen Zuckerbestimmung.

14. Zu nennen sind schließlich noch die von der Chemischen Fabrik in Helfenberg gefertigten Reagenzpapiere zum Zuckernachweis; die Gebrauchsanweisung findet sich dem Etui beigegeben.

An dieser Stelle findet wohl zweckmäßig Erwähnung der von A. Neumann³ auf Grund neuer Farbenreaktionen angegebene Nachweis verschiedener Zuckerarten und einiger anderer Stoffe. Neumann fand durch verschiedene Versuche, daß das Orcin nicht nur ein typisches Pentosenreagens, sondern ebenso brauchbar für den Hexosennachweis ist. Ferner hat sich ergeben, daß die Arabinose, die Xylose und die Glykuronsäure, sowie die Glykose und Fruktose durch schöne Farben, die typische Absorptionsstreifen haben, scharf voneinander zu unterscheiden sind. Zur Ausführung der Reaktionen werden 10 Tropfen (= $\frac{1}{2}$ ccm) der zu prüfenden wässrigen Zuckerlösung in einem weiten Reagenzglas mit 5 ccm käuflichem (90%igem) Eisessig und einigen Tropfen einer starken etwa 5%igen alkoholischen Orcinlösung versetzt und nach dem Umschütteln bis zum völligen Sieden erhitzt. Man hält das Reagenzglas mit einem Halter und läßt nun aus einer mit weitem Tropfrohr versehenen Tropfflasche konzentrierte Schwefelsäure hinzufließen, indem man anfangs zweimal nach je 5, dann nach je 10 Tropfen kräftig schüttelt. Dieses tropfenweise Zugeben der Schwefelsäure unter Umschütteln ist notwendig, weil sonst die Flüssigkeit mit Sicherheit aus dem Reagenzglas geschleudert wird. Man fügt so lange Schwefelsäure hinzu, bis nach dem Schütteln ein recht deutlicher Farbenton bestehen bleibt. Dieser Endpunkt richtet sich nach der Konzentration der zu prüfenden Zuckerlösung, ist aber auch bei sehr schwachen Lösungen durch 40—50 Tropfen zu erreichen; mehr als 50 Tropfen zuzusetzen hat keinen Zweck, weil dann eine etwa auftretende gelbe Färbung durch Zersetzung des Orcins herbeigeführt wird. Umgekehrt ist aber auch nach Eintritt deutlicher Färbung der weitere Zusatz von Schwefelsäure zu vermeiden, weil sonst einerseits Mischfarben entstehen (z. B. bei der Xylose) oder die Farbstofflösung wegen zu starker Färbung nicht direkt mit dem Spektroskope untersucht werden kann. Man betrachtet die Lösung zur Feststellung des Farbentons und zur spektroskopischen Untersuchung erst nach einigen Minuten, wenn sie abgekühlt ist. Ist sie zu stark gefärbt, so kann man in allen Fällen mit Eisessig verdünnen, ohne daß sich die Farbe ändert. Zusatz von viel Alkohol oder Wasser kann erhebliche Änderungen hervorrufen. Die stark mit Wasser versetzten Lösungen lassen sich zum Konzentrieren des Farbstoffes noch mit Amylalkohol ausschütteln.

¹) Pharm. Post, Wien 1890. 26. 393.

²) Südd. Apoth.-Ztg. 1919. 59. 280.

³) Berl. klin. Wochenschr. 1904. 41. 1073.

Eigenschaften der Farbstofflösungen:

Zuckerart	Farbe	Absorptionsstreifen	durch Alkohol oder Wasser zersetzlich?
a) Arabinose	violettrot	rechts von D; bedeckt Gelb und Gelbgrün;	nein
b) Xylose	warm: violettblau kalt: blau	1., rechts von C im Orange; 2., wie bei a, jedoch schwächer. Beim Stehen nimmt 1 an Intensität zu, 2 ab;	nein
c) Glykuronsäure .	warm: grün kalt: grünblau	links von C im Rot, das ganze Spektrum ist beschattet;	durch Alkohol oder Wasser rötlich
d) Glykose	braunrot	rechts von B im Grün, so daß vor dem Streifen noch Grün, hinter ihm Blau und Violett zu sehen sind;	nein
e) Fruktose	warm: braun kalt: gelbbraun	1., links von C im Rot wie bei c; 2., Verdunkelung beginnend wie bei d bis zum Schluß des Spektrums.	durch Alkohol oder Wasser gelbgrün

Bei diabetischem Harn beobachtet man bei Anwendung dieser Probe selbst bei geringem Zuckergehalte intensive braunrote Färbung, während in normalem Zustande der Harn eine bräunlichgrüne Färbung zeigt, die wahrscheinlich als Mischfarbe von den Spuren Glykuronsäure und Glykose des normalen Harnes herrührt.

Beurteilung.

Guido Mann¹⁾ hat die Angaben Neumanns einer Nachprüfung unterzogen, die sehr günstig für die Brauchbarkeit der Methode ausfiel.

Eine Anzahl weiterer angegebener Verfahren zum Nachweis von Zucker im Harn möchte ich kurz aus dem Grunde erwähnen, da der Sachverständige öfters nach dieser oder jener Methode gefragt werden kann. Alle empfohlenen Methoden anzuführen, wäre unmöglich.

C. Agostini erhitzt 5 Tropfen der zu prüfenden Flüssigkeit mit der gleichen Menge Goldchloridlösung (1:1000) und 2 Tropfen Kalilauge (1:20) zum Sieden. Bei Anwesenheit von Zucker tritt Violettfärbung nach dem Erkalten auf.

Allen, Barreswil, Buchner, Criswell, Degener, Drechsel, Fock, Frommherz, Gräber, Loewe, Klitzinsky, Luft, Maridet, Lagrange, Otto, Piffard, Pollitis, Rossel, Sonnerat, Wagner, Violette bringen Fehlingsche Lösung in verschiedener Form zur Anwendung.

Bilinski empfiehlt Fehlingsche Lösung mit Urannitratlösung.

Biltz erhitzt eine mit etwas Fehlingscher Lösung bläulich gefärbte gesättigte Kochsalzlösung und schichtet darauf den Harn; an der Berührungsstelle tritt die Reaktion ein.

Alkalische Pikrinsäurelösung (1:250) läßt Braun mit dem Harn erhitzen; bei Anwesenheit von Zucker entsteht eine rote Färbung.

Fehlingsche Lösung mit Ammoniak empfehlen Gaud, Guignet, Hehner, Moritz, Peska, solche mit Mannit Purdy, solche mit etwas Chlorammonium Monnier, Pellet, mit Cyankaliumlösung Gerrard.

Horsley bringt außer Fehlingscher Lösung eine mit Kalilauge versetzte Lösung von Kaliumchromat zur Anwendung, die beim Kochen grün wird, wenn Glykose vorhanden ist.

Dudley, Krüger, Loewe, Rusting bringen Modifikationen der Nylanderschen Probe.

Duyk wendet eine 20%ige Nickelsulfatlösung an, von der 25 ccm mit 20 ccm Natronlauge (1,33 spez. Gew.) und 50 ccm 6%iger Weinsäurelösung gemischt werden; beim Kochen mit zuckerhaltigem Harn tritt Braun- oder Schwarzfärbung ein.

Ammonmolybdatlösung, wolframsaure Natriumlösung sind von Hager-Gawalowski, Huizinger, Maschke empfohlen worden. Heinrich bringt eine der Sachsesseschen Lösung ähnliche Lösung zur Anwendung, eine ganze Reihe verschiedener Reagenzien, so Natriumjodat, o-Nitrophenol, Natriumvanadat usw. Jaworowski.

Mulder wendet eine mit Soda alkalisch gemachte Indigocarminlösung an, die beim Erhitzen mit Glykose sich gelb färbt.

C. Strzyzowski verwendet 5%iges Formaldehyd; Diabetesharn erhält damit eine grüne fluoreszierende Färbung.

¹⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1905. 42. 231.

Spaeth, Untersuchung des Harnes. 5. Aufl.

Wahl der Methoden.

Man stellt zuerst die Trommersche Probe am besten mit Fehlingscher Lösung, dann die Wismutprobe, in der genau beschriebenen Weise unter Beobachtung der aufgeführten Vorsichtsmaßregeln usw. an; erhält man starke Reaktionen, die die Anwesenheit von Zucker unzweifelhaft ergeben, dann genügen diese Proben; in nicht ganz klaren Fällen wird man die Gärprobe zu Rate ziehen. Die Resultate der letzteren, unter genauer Berücksichtigung des bei der Ausführung Gesagten, helfen über alle Zweifel hinweg; das Vorhandensein oder das Fehlen von Zucker im Harn wird dadurch mit fast absoluter Sicherheit erwiesen. Zeigt z. B. ein Harn Reduktionserscheinungen und hat er diese nach der Vergärung (durch Prüfung des Gärückstandes) verloren, dann war sicher Zucker vorhanden, was auch durch den Gärversuch bewiesen wird; bleiben die Reduktionserscheinungen des Harnes auch nach der Vergärung, so sind reduzierende Substanzen, die durch die Gärung nicht zerstört wurden, die aber auch nicht vom Zucker herrühren können, vorhanden.

Man verwechsle ja nicht reduzierenden Pentosenharn mit Zucker enthaltendem Harn!

Über die Unterscheidung der verschiedenen im Harn vorkommenden Zuckerarten und der durch verschiedene chemische und physikalische Reaktionen und Eigenschaften das Vorhandensein von Zucker vortäuschenden Stoffe siehe die von mir zusammengestellte Übersicht.

Selbstverständlich gibt der polarimetrische Nachweis, wenn ein guter Apparat zur Verfügung steht, besonders auch im Zusammenhange mit der Gärprobe sehr brauchbare Resultate.

Beim Vorhandensein von Zucker vergesse man nicht, den Harn auf Aceton, Acetessigsäure (β -Oxybuttersäure, Ammoniak, Oxalsäure, Indikan) zu prüfen.

Die quantitative Bestimmung des Harnzuckers.

Bei der quantitativen Bestimmung machen sich teilweise dieselben Schwierigkeiten geltend, wie wir sie bereits bei dem qualitativen Nachweis vorgefunden haben. Wenn es gilt, den Nachweis zu erbringen, ob bei einer vom Diabetiker streng beobachteten Diät die Zuckermengen, die ausgeschieden werden, sich konstant bleiben oder ob bei einem beginnenden Diabetes bei einer bestimmten Lebensweise (Diät) eine Zunahme oder Abnahme stattfindet, dann muß eine Methode in Betracht gezogen werden, die eine möglichst genaue quantitative Ermittlung des Zuckers gestattet.

Eine sehr rasche, einfache und auch genaue Werte ergebende Bestimmung wird auf polarimetrischem Wege erreicht, — die Verwendung eines guten Apparates vorausgesetzt, — wenn auch, wie wir bereits wissen, Stoffe im Harn vorhanden sein können, die einen geringen Einfluß auf das Ergebnis auszuüben vermögen; hierüber findet sich bei der Beurteilung dieser Methode (S. 299) das Weitere mitgeteilt.

Sehr sicher und einfach ist die Bestimmung des Zuckers durch die Gärung, seitdem wir mit dem von Lohnstein konstruierten Apparate den Zuckergehalt im Harn ermitteln können.

Auch andere Apparate geben brauchbare Ergebnisse.

1. Bestimmung des Zuckers durch Polarisation.

Zur Vornahme der Prüfung durch Polarisation bedient man sich jetzt fast ausschließlich der Halbschattenapparate nach Lippich, des sogen. Halbschatten-Mitscherlich und des Apparates mit Keilkomensation von Schmidt & Haensch, seltener noch des Wildschen Polari-strobometers, des Spektropolarimeters von E. v. Fleischl und des Polarisationssaccharometers nach Ultzmann.

Im nachstehenden soll zuerst über die Zusammensetzung und über den Gebrauch der bei der polarimetrischen Prüfung in Betracht kommenden

Apparate etwas eingehender berichtet werden; die Mitteilungen hierüber verdanke ich zum Teil dem freundlichen Entgegenkommen der Firma Franz Schmidt & Haensch in Berlin.

Optische Einrichtung der Halbschattenapparate.

Die optische Einrichtung eines der gebräuchlichsten Halbschatten-Polarisationsapparate ist in Fig. 46 dargestellt. Der Apparat ist mit einem zerteiligen Polarisator nach F. Lippich versehen; dieser Polarisator besteht aus den Nicols N_1 und N_2 , sowie der Blende D . Der Apparat wird

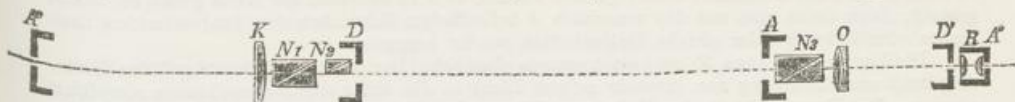


Fig. 46

durch die Blende A' und die Linse K hindurch von einer Lampe beleuchtet, die in einer der Länge des Apparates entsprechenden Entfernung aufgestellt werden muß. Die Blende A , das Nicol N_3 , sowie das kleine astronomische Fernrohr OR bilden die Analysator- oder Meßvorrichtung; letztere ist um die Längsachse des Apparates dreh- und meßbar.

Die Beleuchtungslinse K entwirft von der Flamme ein Bild in der Ebene der Analysatorblende A . Das Fernrohr OR ist scharf auf die Polarisationsblende D , die das Gesichtsfeld begrenzt, eingestellt. Durch die Nicols N_1 und N_2 wird das Gesichtsfeld in zwei Hälften, 1 und 2, die photometrischen Vergleichsfelder, geteilt, die in Figuren 47, 48 und 49 gezeichnet sind.

Die Schwingungsrichtungen ol des Feldes 1 und or des Feldes 2 bilden einen kleinen Winkel ε , den sog. Halbschatten, miteinander. Bei der Einstellung wird das Analysatornicol N_3 mit dem Fernrohr zunächst so gedreht, daß ein Vergleichsfeld, z. B. das nur durch N_1 hindurch beleuchtete Feld 1, ganz dunkel erscheint, ausgelöscht ist (s. Fig. 47); dann ist die Schwingungsrichtung oa des von N_2 hindurchgelassenen Lichtes senkrecht zu ol . Dann dreht man N_3 , bis das andere Feld vollkommen ausgelöscht

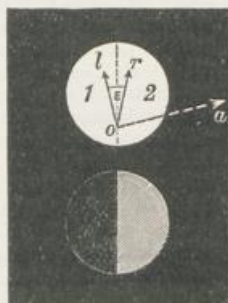


Fig. 47

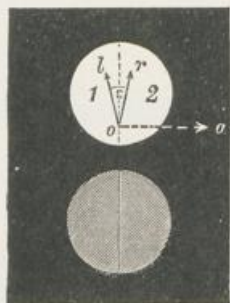


Fig. 48.

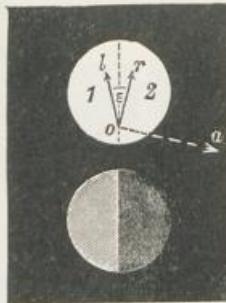


Fig. 49.

ist, wie Fig. 49 zeigt. Dreht man nun N_3 etwas zurück, so findet man eine Stellung, bei der beide Hälften des Gesichtsfeldes in geringer, gleicher Helligkeit erscheinen (s. Fig. 48). Auf diese gleich schwache Beleuchtung benachbarter Vergleichsfelder wird bei allen Halbschattenapparaten eingestellt.

Bei dem bisher beschriebenen Polarisator ist das Gesichtsfeld nach F. Lippich durch zwei Nicols N_1 und N_2 in zwei Hälften geteilt. Die Empfindlichkeit der Einstellung wird noch vergrößert, wenn man durch zwei kleine ähnlich wie N_2 (s. Fig. 46) vor N_1 gesetzte Nicols das Gesichtsfeld in drei Teile teilt; auch dieser Polarisator ist von Lippich angegeben worden.

a) Der Lippichsche Apparat (Fig. 50).

Ein stabiles Dreifußstativ trägt den Balken, auf dem die Einlegerinne fest montiert ist. An dem einen Ende derselben befindet sich der Lippichsche Polarisator P , der aus einem Lippichschen Halbprisma und einem dahinter liegenden größeren, durch den Hebel h drehbaren Glan-schen Prisma besteht. Bei S sitzt die Beleuchtungslinse sowie eine kurze Glasröhre, die durch Abschrauben der Fassung c aus dem Apparate herausgenommen werden kann; sie ist mit einer Kaliumbichromatlösung zu füllen, die zur Reinigung der Natriumflamme dient. Die Lösung wird so gewählt, daß beim Beobachten durch den Apparat das Gesichtsfeld noch genügend hell erscheint. Die Einschaltung dieser Lösung wird erforderlich bei Drehungen von mehr als etwa 5° .

Am anderen Ende der Einlegerinne befindet sich die drehbare Analysatorvorrichtung, im wesentlichen aus dem Teilkreise *K* mit dem Nicol *A* und dem Fernrohr *F* bestehend, die durch den Triebknopf *T* drehbar sind. Die Ablesung geschieht durch zwei feststehende Nonien *n* mit Hilfe der Lupen *ll*. Der Kreis ist in $\frac{1}{4}^\circ$ geteilt; die Messung unter Anwendung der Nonien ergibt eine Genauigkeit von $0,01^\circ$.

Wird der Hebel *h* gedreht — es geschieht dies, um bei sehr dunklen Lösungen ein helleres Gesichtsfeld zu erzielen, freilich auf Kosten der Empfindlichkeit des Apparates, die Drehung sollte deshalb möglichst vermieden werden —, so ändert sich der Halbschatten und somit auch der Nullpunkt des Apparates. Die entstehende Differenz wird praktischerweise in Rechnung genommen. Soll der Nullpunkt aber reguliert werden, so wird zunächst der Kreis genau auf 0 eingestellt; dann dreht man mit den unterhalb *A* befindlichen Schrauben das Analysatornicol nach rechts oder links, bis der gleiche Halbschatten wieder hergestellt ist.

Die Lampe muß etwa 30 cm vom Apparate abstehen. Der mit Chlornatrium gefüllte Platinring muß zur Erzeugung von intensiv gelbem Licht in die Mitte der Bunsenflamme eingeführt werden. Der Brenner ist in der Höhe verstellbar, seine Höhe ist derart zu regulieren, daß das hellste Licht aus dem Schlitz des Schornsteins in den Apparat gelangt. Ist Gas nicht zur Verfügung, so muß eine Spiritus-Natriumlampe verwendet werden.

Beim Zusammenfallen der Nullpunkte von Nonius und Skala, was mit der Schraube (Triebknopf) *T* erreicht wird, erscheinen beide Hälften des Gesichtsfeldes gleich hell; man muß deutlich

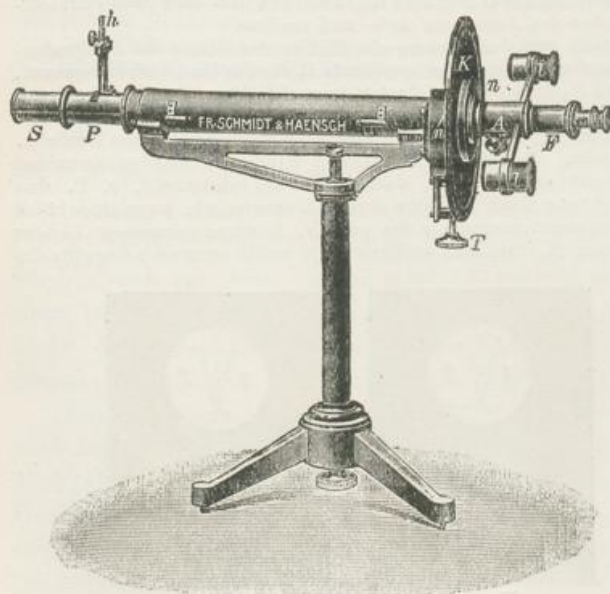


Fig. 50.

den vertikalen Strich sehen; nötigenfalls stellt man den Apparat auf ganz gleiche Helligkeit des Gesichtsfeldes ein und liest an der Skala die Drehung ab, die man bei der Ausführung der Bestimmung dann in Rechnung zu ziehen hat. Erscheint der Strich undeutlich, verschwommen, so stellt man durch Vor- oder Rückwärtschieben des Fernrohres *F* die nötige Helligkeit oder Deutlichkeit her. Ist der Apparat eingestellt (gewöhnlich steht er auf 0° ein) — in die Rinne legt man bei der Einstellung eine mit Wasser gefüllte Röhre —, so gibt man die zu polarisierende Flüssigkeit in der Röhre in den Apparat. Erfolgt eine Drehung durch die Flüssigkeit, so wird das Gesichtsfeld nicht mehr gleich hell, sondern auf der einen Seite hell, auf der anderen verdunkelt sein, und zwar ist bei den meisten Apparaten, wenn das rechte Gesichtsfeld im Apparat dunkel

erscheint, der Körper linksdrehend, wenn das linke Gesichtsfeld verdunkelt ist, rechtsdrehend. Man muß dann also mit der Schraube *T* Analysator und Kreisscheibe nach links drehen (linksdrehende Substanz, linksdrehender Zucker), nach rechts bei rechtsdrehendem. Ist Harnzucker im Harn vorhanden, so wird also das linke Gesichtsfeld verdunkelt erscheinen.

Bei der Bestimmung des Zuckergehaltes im Harn dreht man nach Einlegen des mit dem vorbereiteten Harn beschickten Rohres mit der Schraube *T* so lange das analysierende Nicol und die Kreisscheibe nach rechts, bis die beiden Hälften des Gesichtsfeldes hell sind, was man mit einiger Übung haarscharf erzielt. Enthält die Flüssigkeit in der Röhre keinen Zucker, dann wird keine Verdunkelung einer der beiden Hälften des Gesichtsfeldes eintreten, sondern beide werden gleich hell sein. Bei einer Drehung liest man mit der Lupe den Stand des Kreises gegen den Nonius ab, der bei dem Halbschattenapparate noch die Ablesung von $0,01^\circ$ gestattet; der Nonius ist mit 25 Teilstrichen versehen, die 24 Teilstrichen der Skala des Kreises entsprechen. Da jeder Teilstrich des Kreises $0,25^\circ$ beträgt und 24 solcher Teilstriche auf dem Nonius in 25 Teile geteilt sind, kann man den 25. Teil eines Kreisintervalles, d. h. von $0,25^\circ$ ablesen, mithin $0,01^\circ$. Man zählt vom Nullpunkte der Kreisskala bis zum Nullpunkte des Nonius die ganzen und viertel Grade auf der Kreisskala ab; da nun gewöhnlich der weitere Grad nicht voll ist, so sucht man, vom Nullpunkte des Nonius anfangend, denjenigen Teilstrich des Nonius auf, der mit einem Teilstrich

an der Kreisskala genau zusammenfällt, zählt die Striche vom Nullpunkte des Nonius bis zu diesem Strich an der Kreisskala und zählt diese Teilstriche, von dem jeder $0,01^\circ$ ausmacht, zu den an der Skala abgelesenen ganzen und viertel Graden.

Ein Beispiel mag dies anschaulicher machen.

Fig. 51 zeigt den innen liegenden drehbaren Kreis und den einen äußeren Nonius des Polarisationsapparates. Der Nullstrich des Nonius liegt zwischen den Teilstrichen 13,50 und 13,75 des Teilkreises; der Noniusstrich 0,16 fällt mit einem Striche des Kreises zusammen, also ist abzulesen

$$13,50 + 0,16 = 13,66^\circ.$$

b) Apparat nach Mitscherlich (Halbschatten-Mitscherlich).

Die optische Einrichtung dieses Apparates, der gewöhnlich „Halbschatten-Mitscherlich“ genannt wird, geht ebenfalls aus Fig. 46 hervor, während die Konstruktion in Fig. 53 dargestellt ist. Der Polarisator (P in Fig. 53) besteht aus dem Nicol N_1 und der Blende D (Fig. 46), vor der einen Hälfte des Gesichtsfeldes ist anstatt des kleineren Nicols N_2 eine dünne Laurentsche Quarzplatte angebracht. Der Apparat wird durch die mit dem Apparat verbundene Blende A' und die Linse K hindurch von einer Lampe beleuchtet, die nahe an A' aufgestellt wird; als Lampe wird wie beim Apparat nach Lippich gewöhnlich eine in Fig. 53 abgebildete Gasnatriumlampe mit Platinring zur Aufnahme von Kochsalz verwendet. Die mit dem zu untersuchenden Harn gefüllte Röhre¹⁾, zweckmäßig eine Patentbeobachtungsröhre nach Fig. 52, wird bei der Untersuchung in das Rohr R gelegt. Der Teil AF des Apparates, der Analysator, ist um die Längsachse des Apparates drehbar und trägt bei A das Analysatornicol (N_3 in Fig. 46); F ist ein kleines Fernrohr, mit dem der Beobachter den Polarisator P anvisiert. Man dreht den Analysator, indem man den Hebel c anfaßt und liest die Drehung an dem Teilkreis T mit Hilfe der beiden mit AF verbundenen Nonien ab. Der Apparat ist so justiert, daß das Gesichtsfeld die in Fig. 48 gezeichnete,

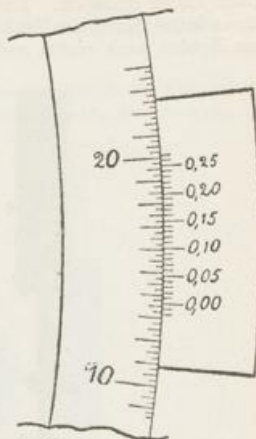


Fig. 51.



Fig. 52. Patent-Beobachtungsröhre.

gleich schwache Beleuchtung der beiden Vergleichsfelder zeigt, wenn der Nullstrich des Nonius auf O steht. Bei geringem Drehen des Analysators aus dieser Stellung heraus zeigt sich die in Fig. 47 oder die in Fig. 49 dargestellte Erscheinung. Man legt zuerst die sorgfältig gereinigte Beobachtungsröhre leer in den Apparat und überzeugt sich, daß bei der Gleichheitsstellung der Nullstrich des Nonius auf O steht (eine kleine Abweichung ist gegebenenfalls an dem

¹⁾ Bekanntlich geschieht das Füllen einer gewöhnlichen Beobachtungsröhre, nachdem der eine Deckel mit Deckglas angeschraubt ist, durch vorsichtiges Eingießen, bis eine kleine Kuppe vorhanden ist, die dann mit dem Deckglas seitwärts derart abgestrichen werden muß, daß sich weder eine Blase in der Röhre bildet, wodurch eine freie Durchsicht verhindert und somit eine Polarisation unmöglich gemacht würde, noch auch, daß die obere Seite des Deckglases von der abgestrichenen Flüssigkeit befeuchtet wird. Abgesehen davon, daß diese Manipulation dem Beobachter öfters nicht gelingt und dann Zeitverlust entsteht, ist die Zugabe der fast jedesmal stattfindenden Benetzung der Hand durch die abgestrichene Flüssigkeit gewiß nicht angenehm. Deshalb hat die Firma Franz Schmidt & Haensch schon seit Jahren eine durch Patent (D. R. P. 104846) geschützte Beobachtungsröhre „Patent-Beobachtungsröhre“ konstruiert, bei der die eine Seite, wie aus der Fig. 52 ersichtlich, eine Erweiterung besitzt, die speziell zur Aufnahme einer Luftblase dient, ohne daß die letztere bei der Beobachtung stört. Bei Anwendung dieser Röhre sind demnach die vorstehend angegebenen Unbequemlichkeiten vollkommen vermieden. Die Füllung der Patentröhre erfolgt von der der Erweiterung entgegengesetzten Seite aus (also am engen Ende) derart, daß die Flüssigkeit den äußersten Rand noch nicht ganz erreicht; nun legt man das kleine Deckglas auf und verschraubt die Röhre ohne Gewalt. Die dann mit eingeschlossene Luftmenge tritt durch Umkippen der Röhre in Form einer Blase a in den erweiterten Raum ein, ohne die freie Durchsicht jetzt zu hindern.

späteren Resultat als Korrektion zu addieren oder zu subtrahieren). Dann füllt man die Röhre, legt diese ein und stellt zunächst das Fernrohr etwas nach, bis die Trennungslinie der Vergleichsfelder scharf erscheint. Darauf stellt man nochmals auf Gleichheit ein; ist in der Flüssigkeit, wie es beim Harn der Zuckerkranken der Fall ist, Traubenzucker enthalten, so findet man jetzt den Nonius nach rechts gedreht; die Drehung wird, wie unten angegeben, genau abgelesen.

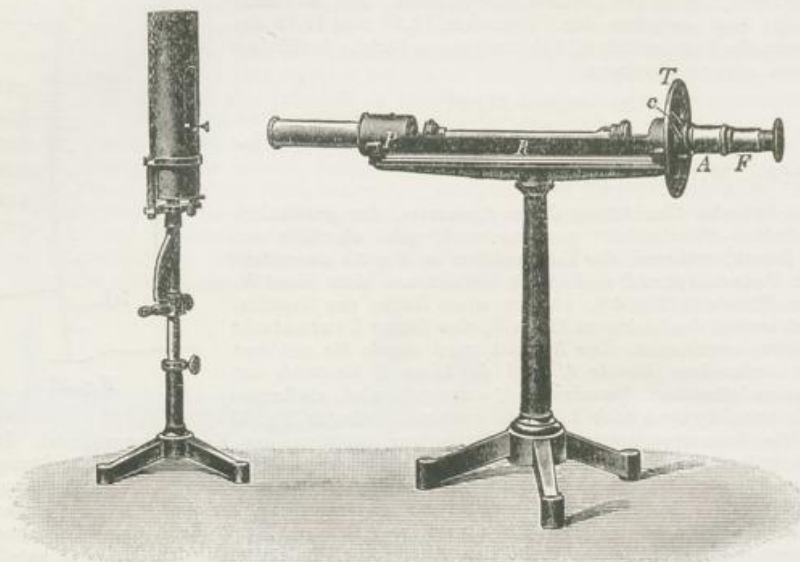


Fig. 53. Polarisationsapparat nach Mitscherlich.

Ist c die Konzentration des untersuchten Harnes an Traubenzucker, d. h. die Anzahl Gramme Traubenzucker in 100 ccm Flüssigkeit, ist l die Länge der benutzten Röhre in dm, α der gemessene Drehungswinkel, so ist

$$\alpha = \frac{52,8 \cdot l \cdot c}{100}.$$

Um jede Rechnung zu vermeiden, kann man ausschließlich Röhren von der Länge $l_1 = \frac{100}{52,8} \text{ dm} = 189,4 \text{ mm}$ oder $l_2 = 94,7 \text{ mm}$ verwenden und findet demnach einfach

$$c_1 = \alpha \quad \text{oder} \quad c_2 = 2 \cdot \alpha.$$

Es ist also der Gehalt an Traubenzucker in 100 ccm Flüssigkeit bei Verwendung der Röhre von 189,4 mm (oder 94,7 mm) direkt gleich dem abgelesenen Drehungswinkel (oder doppelt so groß). In nicht ganz korrekter Weise nennt man in der Praxis c einfach „Prozente Traubenzucker“.

Beispiel 1. Polarisationsapparat mit Natriumlicht beleuchtet; Länge der Beobachtungsröhre 189,4 mm; bei leerer Röhre steht der Index genau auf 0, wenn auf gleiche Helligkeit der beiden Vergleichsfelder eingestellt ist.

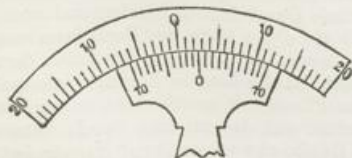


Fig. 54. Teilung beim Polarisationsapparat nach Mitscherlich.

In Fig. 54 ist der außen liegende Kreis und der innen liegende Nonius des „Halbschatten-Mitscherlich“ gezeichnet. Der Nullstrich des drehbaren Nonius steht rechts vom Nullpunkt des feststehenden Kreises zwischen dem zweiten und dritten Teilstrich; von den Strichen des rechtsstehenden Nonius fällt der achte mit einem Teilstrich des Kreises zusammen, also ist die Ablesung

$$+ (2^\circ + 0,8^\circ) = + 2,8^\circ.$$

Der zu untersuchende Harn ist vollkommen klar und ungefärbt. Bei gefüllter und eingelegter Röhre wird auf gleiche Helligkeit eingestellt und $+ 3,1^\circ$ abgelesen. (Die Drehungen im Sinne des Uhrzeigers werden mit $+$, die umgekehrten mit $-$ bezeichnet.) Dann ist der Traubenzuckergehalt $3,1 \text{ [g in 100 ccm]}$.

Bei linksdrehenden Lösungen steht der Nullstrich des Nonius links vom Nullpunkte des feststehenden Kreises; die Ablesung geschieht unter Benutzung des linken Nonius in derselben Weise wie vorstehend angegeben.

c) Halbschattenapparat mit Keilkomensation (Schmidt und Haensch).

Gegenwärtig verwendet man zweckmäßig und mit sehr gutem Erfolge einen Apparat mit Keilkomensation, der mit jeder weißen Lichtquelle beleuchtet werden kann, die 2–3 cm vom Apparate entfernt aufgestellt wird.

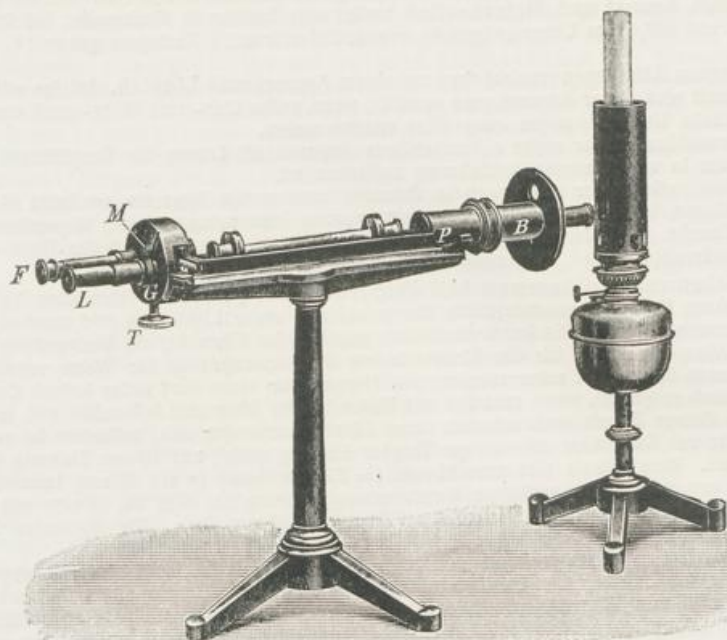


Fig. 55. Polarisationsapparat mit Keilkomensation.

Mit diesem Apparate (Fig. 55) kann der Traubenzuckergehalt bei Benützung einer 200 mm langen Röhre direkt abgelesen werden.

Durch das scharf einzustellende Fernrohr bei *F* blickt man den Polarisator *P* an; bei *B* befindet sich die Beleuchtungslinse. Dreht man mit der Schraube *T*, so wird der im Gehäuse *G* befindliche Quarzkeil bewegt, der mit einer Zahnstange und Skala verbunden ist; die Größe der Verschiebung, die die zu polarisierende Lösung nötig macht, um gleiche Helligkeit der beiden Hälften des Gesichtsfeldes herbeizuführen, wird mit der Lupe bei *L* an der durch den Spiegel *M* beleuchteten Skala abgelesen; der Spiegel *M* empfängt sein Licht durch die Lampe und die Beleuchtungslinse.

Man stellt zunächst mit dem scharf eingestellten Fernrohr den Apparat durch Drehen bei *T* auf gleiche Helligkeitsschicht ein; der Apparat ist so justiert, daß der Nullstrich der Skala mit dem Nullstrich des Nonius genau zusammenfällt. Sollte dies nicht der Fall sein, dann verschiebt man den Nonius mit dem dem Apparate beigegebenen Vierkantschlüssel, bis die richtige Einstellung erfolgt ist. Nun wird die Röhre mit der zu polarisierenden Lösung eingelegt und auf gleiche Helligkeit des Gesichtsfeldes eingestellt; hier werden nur Röhren von 200, 100, 50 mm Länge verwendet.

Die Ablesung der Ablenkung erfolgt in etwas anderer Weise, wie bei den Kreisapparaten. Die Skala ist nur in halbe Grade geteilt; der Nonius zeigt fünf Teilstriche, die gleich vier Teilstrichen (halben Graden) der Skala sind, so daß also ein solcher Noniusteilstrich = $\frac{1}{10}^\circ$ entspricht. In der Abbildung Fig. 56 sind zwei Teilstriche = zwei halbe Grade der Skala am Nullpunkte des Nonius vorbeigegangen; zur Ermittlung der $\frac{1}{10}$ zählt man nun vom Nullstriche des

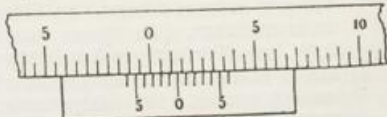


Fig. 56. Teilung beim Polarisationsapparat mit Keilkomensation.

Nonius nach rechts gehend die Striche so lange, bis der Noniusteilstrich mit einem der Skala zusammenfällt, was hier mit dem dritten Noniusteilstriche der Fall ist; es sind somit zu den zwei halben = einem ganzen Grade noch 0,3° hinzuzuzählen, so daß die Ablenkung 1,3° beträgt, entsprechend 1,3% Zucker.

Bei Linksdrehung, z. B. bei Anwesenheit von Eiweiß im Harn, tritt der linke Nonius in Wirksamkeit.

Wahl des Apparates.

Die Preise der Apparate können bei den derzeitigen Verhältnissen nicht angegeben werden; man befragt deshalb vorher die die Apparate anfertigende optische Werkstätte. Der für die Praxis zu empfehlende Apparat nach Mitscherlich besitzt eine Teilung in Kreisgrade; bei Anwendung einer Röhre von 189,4 mm Länge entspricht, wie S. 294 erwähnt, 1 Kreisgrad genau 1% Traubenzucker.

Sehr genaue Ablesungen erreicht man mit einem Apparat nach Lippich. Infolge seiner hohen Empfindlichkeit wird dieser Apparat gern gewählt, wenn außer Urin- und Wein- auch noch andere wissenschaftliche Untersuchungen ausgeführt werden sollen.

Sehr brauchbar ist der unter c beschriebene Apparat mit Lampe für Gasglühlicht oder für Petroleum, der in verschiedener Ausführung zu haben ist.

Eine Beschreibung der etwa noch in Betracht kommenden Apparate erscheint überflüssig, da den sämtlichen Apparaten eine solche und eine genaue Gebrauchsanweisung beigegeben werden.

Zum Zwecke der Polarisation in einem der erwähnten Apparate muß der Harn erst entsprechend vorbereitet werden, und zwar sind folgende Bedingungen zu erfüllen:

1. Der Harn muß vollkommen hell sein; trüber und gefärbter Harn kann keine Verwendung finden; besonders trübe Harn nehmen mehr Licht weg und machen die Bestimmung unsicher. Es kann empfohlen werden, den Harn für die Verwendung zur Polarisation und auch für die titrimetrischen Bestimmungen in der Weise vorzubereiten, daß man 50 ccm des sauer reagierenden Harnes (der Harn darf unter keinen Umständen alkalisch reagieren, wenn man ihn mit Bleiessig oder Bleiacetat behandeln will, auch muß nach diesem Zusatz noch schwach saure Lösung vorhanden sein, außerdem ist vorheriger Zusatz von Essigsäure oder einiger Tropfen Eisessig nötig) mit 10 ccm Bleiessig füllt und filtriert. Vom Filtrate gibt man 30 ccm (= 25 ccm Harn) in ein 50 ccm fassendes Meßkölbchen, fügt 5 ccm gesättigte Natriumphosphatlösung zu, füllt bis 50 ccm mit Wasser auf, schüttelt um und polarisiert das Filtrat im 200 mm-Rohr. Die abgelesene Drehung ist zu verdoppeln.

Statt des Bleiessigs kann man auch (wobei weniger Vorsicht nötig ist wegen Ausfällung an Zucker, wie bei Anwendung von Bleiessig) 10 ccm einer Bleiacetatlösung (25 g : 100 ccm Wasser) anwenden; die Ausfällung des im Überschuße zugesetzten Bleis in der angegebenen Weise möchte ich aber empfehlen, wenn auch andererseits gefunden worden ist, daß die Polarisation der noch Bleiacetat enthaltenden Lösung Fehler nicht bedingen soll. Lävulose im Harn wird nach den Versuchen von O. Adler durch Bleiessig in beträchtlicher Menge gefällt.

C. Patéin und E. Dufau¹⁾ haben gefunden, daß das Ausfällen mit Bleiessig und Bleiacetat nicht in allen Fällen genügt und haben folgendes Verfahren empfohlen, das nach Tanret's Mitteilung zuerst von ihm vorgeschlagen wurde. 50 ccm Harn werden mit so viel der Quecksilbernitratlösung (200 g saures Quecksilbernitrat werden mit 500 bis 600 ccm Wasser gelöst; es wird so viel Natronlauge zugemischt, bis eben ein schwacher Niederschlag entsteht und dann zu 1 Liter aufgefüllt oder 220 g gelbes Quecksilberoxyd werden in 300 bis 400 g Wasser und der gerade genügenden Menge Salpetersäure gelöst, einige Tropfen Natronlauge bis zum Erscheinen eines gelbbraunen Niederschlags hinzugefügt, darauf wird bis zu 1 Liter aufgefüllt und filtriert) versetzt, bis durch diese kein Niederschlag mehr hervorgerufen wird; dann fügt man aus einer Bürette tropfenweise verdünnte Natronlauge bis zur neutralen oder höchstens ganz schwach alkalischen Reaktion hinzu, füllt zu 100 ccm auf und filtriert. Im Filtrate darf auf Zusatz von Natronlauge kein Niederschlag mehr entstehen. (Die Spuren Quecksilber können durch Zusatz sehr geringer Mengen von 0,8%iger Natriumhypophosphitlösung abgeschieden werden.) 50 ccm der gewonnenen klaren Flüssigkeit werden polarisiert, 50 ccm können zur titrimetrischen Bestimmung verwendet werden. Bei letztgenannter Bestimmung darf aber kein Natriumhypophosphit zugesetzt werden; übrigens hindern Spuren von Quecksilber bei dem polarimetrischen Nachweis nicht, dagegen entfernt man diese, wenn man die Lösung zur titrimetrischen Bestimmung des Zuckergehaltes verwenden will, in der Weise, daß man 50 ccm des Filtrates mit 2 g Zinkpulver versetzt, schüttelt und das Filtrat alkalisch macht.

Zu dieser Ausführungsweise muß ich bemerken, was mir auch von F. Glaser mitgeteilt wurde, daß man bei manchen Harnen auf 50 ccm Harn bis über 50 ccm Reagens

¹⁾ Journ. Pharm. Chem. 1902. [6] 15. 221; 1903. 17. 5. Les nouv. remèdes. 1902. 229.

verbrauchen kann, wodurch der Harn so sauer wird, daß man bis zum Neutralisationspunkte etwa 20 ccm der 10%igen Lauge nötig hat; dies bedingt eine zu weitgehende Verdünnung. Nach Patéins¹⁾ weiteren Mitteilungen ist der Zusatz in der geschilderten Weise nicht nötig; man setzt zu 50 ccm Harn 25 ccm Reagens und dann tropfenweise bis zum Eintritt der neutralen Reaktion (Lackmus) verdünnte Natronlauge; es wird auf 100 ccm aufgefüllt und filtriert.

Mit der Frage der Klärung und Entfärbung des Harnes hat sich C. Neuberg²⁾ eingehend beschäftigt. Nach Denigès ist das Verfahren von Patéin schwer durchführbar, da auch hier zu große Verdünnungen entstehen; er läßt 40 ccm Harn mit 20 ccm von seinem Reagens (in 160 ccm Salpetersäure vom spez. Gew. 1,39 trägt man unter Umrühren allmählich 220 g rotes Quecksilberoxyd ein; es dürfen sich keine Klumpen bilden. Nach 5–6 Minuten langem Stehen in der Kälte fügt man 160 ccm Wasser hinzu und erhitzt zum Sieden; man läßt abkühlen und setzt unter Schütteln 40 ccm einer Natronlauge hinzu, die aus 1 Vol. 30%igem Ätznatron vom spez. Gew. 1,33 und 3 Vol. Wasser gemischt ist; die Lösung wird in einem Meßkolben auf 1 Liter aufgefüllt, umgeschüttelt und nach dem Filtrieren in gelben Flaschen verwahrt) versetzen, umschütteln und etwa 20 ccm 7,5%ige Natronlauge tropfenweise bis zur neutralen Reaktion auf Lackmus hinzugeben, auf 100 ccm auffüllen, filtrieren und in einem 50 cm-Rohre polarisieren. Das Filtrat trübt sich leicht, man säuert es mit Salzsäure an oder entfernt das Quecksilber durch Zinkstaub oder Zinkgranalien in der Weise, daß 50 ccm des Filtrates mit 4–5 g Zink und 1 Tropfen Salzsäure geschüttelt werden; nach 1 Stunde ist in der Regel das Quecksilber entfernt.

Nach Neuberg kann für alle praktischen Zwecke die Entfärbung mit neutralem Bleiacetat vorgenommen werden; die Mercurinitratmethode ist umständlich, so große Polarisationsröhren sind oft nicht bei der Hand. Zuckerverluste durch den Zusatz von Bleisalzen sind nicht zu befürchten, wenn man ein für allemal den Urin vor dem Bleizusatz mit 1–3 Tropfen Eisessig deutlich sauer macht. Durch die Anwendung von Bleiacetat (man schüttelt 10–12 ccm Harn in einem Reagenzglas mit etwa 2 g gepulvertem Bleiacetat und filtriert) kann man jede Verdünnung vermeiden.

Will man für spezielle Zwecke auch Quecksilbersalze verwenden, so kann man nach Neuberg Mercuriacetat in fester Form, ähnlich wie das Bleiacetat verwenden; man erspart sich auch hier Verdünnung und Neutralisation.

Michaelis und Rona³⁾ schlugen das Ferrum oxydatum dialysatum zur Enteiweißung, Klärung und Entfärbung vor, auch Kaolin; letzteres wirkt nur, wenn gleichzeitig fällbare Proteinstoffe oder andere Kolloide zugegen sind. Von kolloidalem Eisenhydroxyd genügen häufig wenige Tropfen, ebenso von dem gleichfalls für diese Zwecke empfohlenen Ferrisubacetat (Liquor Ferri subacetici). Ersteres könnte, wenn zuviel davon zugesetzt wurde, aus dem Filtrat durch etwas Kochsalz oder Magnesiumsulfat, letzteres durch Aufkochen mit einem löslichen Acetat (Natriumacetat) entfernt werden.

Neuberg glaubt, daß man in den meisten Fällen von jedem Klärmittel absehen kann, wenn es die optischen Verhältnisse irgend gestatten. Wenn man die Natriumflamme verstärkt durch Anwendung von Natriumsalzen, die in der Gaslampe reichlich Sauerstoff abgeben, z. B. von Natriumnitrit in Krystallen oder bei Anwendung von Auerlicht, dann wird die Eigenfarbe der Harnes nicht stören. Trübe Harnes (Harn bei Phosphaturie) kann man durch einen Tropfen Eisessig klären.

Ich bin mit der zuerst angegebenen Behandlungsweise des Harnes (Zusatz von Bleiacetat, Ausfällen des im Überschuß zugesetzten Bleies) immer gut gefahren. Neubergs Versuche bestätigen die Brauchbarkeit dieses Verfahrens gleichfalls. In einzelnen Fällen kann man sich dann der Ausfällung der störenden Stoffe mit Quecksilberacetat bedienen. S. 274. 275.

Nach G. Bohmannsson⁴⁾ kann man 20 ccm Harn mit 5 ccm 25%iger Salzsäure und 2 g reiner Blut- oder Knochenkohle versetzen, 5 Minuten lang einige Male schütteln und das Filtrat polarisieren. Zucker soll bei dieser Ausführung nicht zu Verlust gehen. Der abgelesene Wert ist mit 1,5 zu multiplizieren. Doch siehe S. 274.

Andersen⁵⁾ versetzt 40 ccm Harn mit 50%iger Essigsäure bis auf 50 ccm und mit 4 g gepulverter Blutkohle und schüttelt innerhalb 5–10 Minuten mehrmals; das klare und wasserhelle Filtrat kann ohne Neutralisation polarisiert oder nach Bang titriert werden.

C. Carrez⁶⁾ versetzt 50 ccm Harn nacheinander mit 5 ccm einer Lösung von 150 g Ferrocyankalium im Liter und mit 5 ccm einer Lösung von 300 g Zinkacetat im Liter.

¹⁾ Journ. Pharm. Chim. 1903. [6]. 17. 5.

²⁾ Biochem. Zeitschr. 1910. 24. 423.

³⁾ Ebenda. 1907. 7. 329.

⁴⁾ Biochem. Zeitschr. 1909. 19. 281.

⁵⁾ Ebenda. 1911. 37. 262.

⁶⁾ Ann. chim. analyt. appl. 1908. 13. 97; Chem. Centralbl. 1908. 79. II. 1499.

Man schüttelt um, filtriert und polarisiert das Filtrat. Den erhaltenen Wert multipliziert man mit 1,2.

A. Wiesler¹⁾ klärt den Harn mit Tonerdehydrat (100 ccm Harn + 10 ccm Tonerdehydrat).

Das Filtrat von dem auf die eine oder die andere Weise vorbereiteten Harne wird in die 100 oder 200 mm (oder 94,7 oder 189,4 mm bei Verwendung der unter a) und b) besprochenen Apparate) langen Glasröhren mit abgeschliffenen Enden, die mit Glasplatten und auf das Rohr aufschraubbaren Kappen verschlossen werden, gefüllt. Zwischen Glasplatte und Kappe liegt ein Kautschuk- oder Korkring. Die Glasplatten müssen planparallel sein und dürfen nicht zu scharf durch die Kappen aufgeschraubt werden, da sie sonst Doppelbrechung und farbige Polarisation zeigen. Auch dürfen keine Luftblasen in die Flüssigkeitssäule eingeschlossen werden; bei Anwendung der Seite 293 beschriebenen Patentbeobachtungsröhre (Fig. 52) wird dies vermieden. Die Polarisation nimmt man am besten bei 15–17° vor.

Tierkohle allein könnte zur Entfärbung des Harnes nur Verwendung finden, wenn man sich vorher genau überzeugt hat, daß die Kohle keinen Zucker absorbiert.

2. Der Harn muß ganz frei sein von Eiweiß, da dieses links dreht; das Eiweiß muß erst durch Kochen entfernt und der Harn mit Wasser auf sein ursprüngliches Volumen aufgefüllt werden; doch genügt die Behandlung des Harnes mit Quecksilberacetat.

Ausführung der Polarisation.

Diese ist eine einfache und ist bereits bei der Erklärung der angegebenen Apparate mitgeteilt. Man stellt erst den Apparat genau ein — gewöhnlich steht er auf 0° ein —, gibt dann die Röhre mit dem zu prüfenden und vorbereiteten (s. o.) Harne in den Apparat und dreht, bis die auf der einen Seite beobachtete dunklere Färbung des Gesichtsfeldes vollkommen verschwunden und das Gesichtsfeld gleich hell ist. Man liest, wie angegeben, ab und berechnet bei Anwendung der unter a und b beschriebenen Apparate (s. auch S. 291 und 293) in folgender Weise:

Die spez. Drehung²⁾ des Traubenzuckers beträgt 52,74°; es entspricht somit die Drehung von 52,74° = 100 g Zucker in 100 ccm. Bei der Bestimmung im Harne kann man eine Drehung von 52,8° (s. S. 273) annehmen.

Zur Berechnung dient die Gleichung $c = \frac{a \cdot 100}{52,8 \cdot l}$, worin:

c = Zucker in Grammen in 100 ccm Lösung,

a = die abgelesene Ablenkung,

l = Länge des Beobachtungsrohres in Dezimetern.

Betrug z. B. im 200 mm-Rohr die Ablenkung 1,1°, so enthält die polarisierte Lösung $\frac{1,1 \cdot 100}{52,8 \cdot 2} = 1,041\%$ Zucker. (1° der Ablesung an den Kreisgradapparaten also = 0,95 g Traubenzucker bei Anwendung des 200 mm-Rohres.)

Bei der Berechnung haben wir noch die durch die Vorbehandlung des Harnes bedingte Verdünnung zu berücksichtigen und weiter noch in Betracht zu ziehen, ob man etwa 50 ccm des Filtrates vom vorbehandelten Harne noch irgendwie weiter behandelt und auf 55 ccm aufgefüllt hat. In dem letzteren Falle müßte dem erhaltenen Resultate noch $\frac{1}{10}$ der berechneten

¹⁾ Zeitschr. angew. Chem. 1906. 19. 1547.

²⁾ Man versteht darunter die Drehung, die 100 g Substanz in 100 ccm Flüssigkeit gelöst bei einer Länge der Flüssigkeitssäule von 100 mm — also im 100 mm-Beobachtungsrohr — bewirken; sie beträgt für die Natriumlinie D, also $\alpha[D] = + 52,74^\circ (= 100\% \text{ Traubenzucker})$.

Prozente zugezählt werden, wenn man nicht die Polarisation im 220 mm-Rohr vorgenommen hat, wodurch dieser Verdünnung Rechnung getragen ist. Wir hätten also den aus der Drehung des Filtrates wie oben berechneten Zucker-gehalt zu verdoppeln (wenn der Harn nach den Vorschriften 1:1 verdünnt wurde) und, wenn nicht im 220 mm-Rohr polarisiert wurde, noch $\frac{1}{10}$ des berechneten Zuckergehaltes zuzuzählen, im Falle die 50 ccm Filtrat durch weitere Behandlung zu 55 ccm aufgefüllt worden sein sollten.

Im angeführten Beispiel würde der Zuckergehalt $1,041.2 = 2,082\%$ betragen.

Zur genauen Ermittlung der Gewichtsprozente wird die wie vorstehend gefundene Grammzahl durch das spez. Gewicht des Harnes dividiert.

Um jede Berechnung bei Verwendung der unter a) und b) besprochenen Apparate zu vermeiden, hat die Firma Schmidt & Haensch, wie schon Seite 294 erwähnt, Röhren von einer Länge zu 94,7 und 189,4 mm konstruiert, die der spez. Drehung des Traubenzuckers Rechnung tragen, so daß bei Verwendung dieser Röhren der Gehalt an Traubenzucker in 100 ccm Flüssigkeit gleich dem abgelesenen Drehungswinkel (bei 189,4 mm Länge) oder doppelt so groß ist (bei 94,7 mm Länge). Bei Verwendung des Apparates mit Keilkompensation können nur Röhren von 50, 100 oder 200 mm Länge Verwendung finden, da hier infolge der Quarzkeilkompensation die Zuckerprozente abgelesen werden können. Bei Verwendung der 100 mm-Röhre ist selbstverständlich der gefundene Prozentgehalt zu verdoppeln, bei Verwendung der 50 mm-Röhre ist er mit 4 zu multiplizieren. Die durch die Vorbehandlung des Harnes bedingte Verdünnung muß natürlich berücksichtigt werden.

Beurteilung.

Die polarimetrische Prüfung ist bei Verwendung eines guten Apparates als eine sehr genaue zu bezeichnen, die nur kurze Zeit beansprucht.

Fehler dieser Methode können veranlaßt werden durch die Anwesenheit von Eiweiß, Glykuronsäuren, β -Oxybuttersäure, Lävulose, Lajose, Milchzucker im Harn.

Eiweiß ist leicht zu entfernen; gepaarte Glykuronsäuren und β -Oxybuttersäure drehen links, vergären aber nicht, so daß hier eine Polarisation vor und nach der Vergärung des Harnes zum Ziele führt; übrigens können Glykuronsäuren, β -Oxybuttersäure und Eiweiß durch die geschilderten Vorbereitungen entfernt werden.

Gepaarte Glykuronsäuren können im Harn nach dem Einnehmen von Chloral, Phenolen, aphthalin, Kampfer, Terpentinöl, Antipyrin enthalten sein und dann die optische Linksdrehung veranlassen. Beim Zusatze von Säuren können diese gepaarten Glykuronsäuren freie rechtsdrehende Glykuronsäure abspalten.

Harn nach dem Einnehmen von Santonin dreht links.

Die linksdrehenden Zucker sind nachgewiesen, wenn die titrimetrische Bestimmung des Zuckers höhere Werte gibt, als die polarimetrische.

Die Lävulose kommt nicht häufig vor.

Milchzucker findet sich äußerst selten (nur im Harn der Wöchnerinnen).

Rechtsdrehung kann der Harn zeigen nach Einnehmen von Medikamenten, besonders beim chronischen Morphinismus; hier führt auch die Polarisation vor und nach dem Vergären zum Ziel, da durch die Gärung die Rechtsdrehung nicht beeinflußt wird.

Bei polarimetrischen Prüfungen unterrichte man sich nach den etwa verabfolgten Heilmitteln und vergesse nicht, chemische Reaktionen und die Gärung anzustellen.

2. Bestimmung des Zuckers durch Gärung.

Prinzip.

Durch Hefe wird bekanntlich eine Dextroselösung in Äthylalkohol und in Kohlensäure zerlegt, und zwar liefert 1 ccm einer 1%igen Dextroselösung ungefähr 2,5 ccm Kohlendioxyd (CO_2) bei 760 mm Barometerdruck und bei 15°.

Bereits bei der Besprechung der qualitativen Proben zum Zuckernachweis wurde erwähnt, daß die Gärprobe entschieden die sicherste Probe darstellt, da durch sie Fehler, die durch das Vorhandensein anderweitiger störender und das Ergebnis beeinflussender Stoffe bedingt sind, ausgeschlossen werden.

Die hierzu empfohlenen Apparate (Fiebig, Einhorn) waren es immer noch, die diese Methode nicht so in den Vordergrund treten ließen, da mit diesen nicht die genauen Ergebnisse ge-

wonnen wurden, wie sie erhalten werden müssen. Eine Ausnahme machte der von R. Fleischer¹⁾ erfundene Apparat, mit dem bei richtiger Handhabung brauchbare Resultate erhalten wurden.

Th. Lohnstein hat zwei Apparate konstruiert, die sich nicht nur durch eine einfache Handhabung, sondern auch vor allem dadurch auszeichnen, daß sie sehr gute Resultate liefern.

Auch noch andere geeignete Apparate sind inzwischen konstruiert worden.

Meiner Ansicht nach ist das Problem, eine einwandfreie, leicht auszuführende, genaue Methode zum quantitativen Zuckernachweis zu besitzen, nun endgültig gelöst, wozu nicht zum letzten noch der Punkt zu erwähnen mir notwendig erscheint, daß das Verfahren in Beziehung auf Material und Apparate ein billiges ist.

Man beachte aber die Seite 282 angegebene Vorbereitung des Harnes. Alkalisch oder ammoniakalisch gewordener Harn ist nicht mehr brauchbar. Alkalischer Harn bindet Kohlensäure.

C. Neuberg und A. Hildesheimer²⁾ fanden allerdings, daß käufliche Hefe und auch Hefereinkulturen ohne Vorhandensein von Zucker mit verschiedenen Stoffen (darunter Milchsäure, Brenztraubensäure, Buttersäure, Lecithin, Cystin u. a.) Kohlensäure entwickeln können. Der Nachweis von Alkohol wäre dann nicht unwichtig (Seite 284).

a) Die Zuckerbestimmung mit dem Lohnsteinschen Apparat.

Vor der Besprechung der Ausführung der Methode mag erwähnt sein, daß Th. Lohnstein³⁾ im Jahre 1898 ein neues Gärungssaccharometer konstruiert hat, das nur für zuckerhaltige Urine von 0,0 bis 1,0% Verwendung finden konnte. Urine mit höherem Zuckergehalte mußten verdünnt werden. Ende des Jahres 1900 baute Th. Lohnstein⁴⁾ seinen zweiten Apparat, der sich dadurch von allen bis jetzt empfohlenen Apparaten unterscheidet, daß bei seiner Anwendung der Urin nicht verdünnt zu werden braucht, da seine Skala das ganze Intervall der Zuckergehalte von 0—10% umfaßt. Das ist für die Genauigkeit der Resultate insofern von Vorteil, als ein etwaiger Fehler der Einstellung sich nicht durch Multiplikation mit der Verdünnungszahl vergrößert. Ein solcher durch starke Kohlensäureabsorption möglicher Fehler ist übrigens in dem neuen Apparate aus zwei Gründen auf ein Minimum reduziert; einmal ist im Gegensatz zu dem früheren Saccharometer die im Harn absorbiert bleibende Kohlensäuremenge klein gegen die gasförmig abgeschiedene; sodann ist dadurch, daß der Harn in einer niedrigen Schicht auf die Oberfläche des Quecksilbers ausgebreitet und schon bei mittleren Zuckergehalten im Laufe der Gärung lediglich als Meniskus an der Glaswand vorhanden ist, eine Übersättigung des Harnes mit Kohlensäure äußerst erschwert, da die durch die Diffusion erfolgende Abgabe des im Überschuß vorhandenen Gases unter diesen Umständen äußerst schnell erfolgen muß.

Ausführung.

Man füllt die dem Apparate⁵⁾ beigegebene Quecksilbermenge vollständig bei beiderseits offenem Rohr in den Apparat (Fig. 57), bringt mit der dem Apparate beiliegenden geeichten Spritze auf die Oberfläche des Quecksilbers in der Kugel genau 0,5 ccm von dem zu untersuchenden Harn und dann mit der gereinigten gleichen Spritze je nach dem Zuckergehalte des Harnes 5—10 Teilstriche (0,1—0,2 ccm) des Hefebreies — ein Stück möglichst frischer Preßhefe wird mit dem 2—3fachen seines Volumens gewöhnlichen Wassers zu einem Brei verrieben; 4 Tropfen des Breies verwendet man zweckmäßig bei voraussichtlich sehr hohem [über 5%] Zuckergehalt des Urins, während man bei sehr geringem Zuckergehalt, den man daran erkennt, daß die Trommersche Probe zweifelhaft oder nur schwach positiv ausgefallen ist, nur 2 Tropfen eines dünnen Hefebreies, 1 Teil Hefe zu 10—15 Teilen Wasser, verwendet — in den Apparat zum Urin. Nunmehr setzt man den

¹⁾ Med. chirurg. Rundsch. 1887. 743; Chem. Centralbl. 1888. 62.

²⁾ Biochem. Zeitschr. 1911. 31. 170.

³⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1898. 35. Nr. 39.

⁴⁾ Allgem. med. Centralztg. 1899. 68. Nr. 101; 1900. 69. Nr. 30ff. (Separatabdruck).

⁵⁾ Präzisionsgärungssaccharometer von H. Noffke & Co., Berlin SW. 47, Yorkstraße 19. zu beziehen. Dem Apparate liegt die genaue Gebrauchsanweisung bei. Es wird noch bemerkt, daß die durch Th. Lohnstein kontrollierten Apparate mit dem Warenzeichen „Dr. Lohnstein“ Nr. 73015 versehen sind; es wurden Nachahmungen der Apparate vorgefunden, die zum Teil ganz falsche Werte ergaben.

mit dem Dichtungsmittel (gleiche Teile gelbes Wachs und Vaseline) recht gleichmäßig und vollständig bestrichenen Stöpsel auf den Hals der Kugel so auf, daß die Öffnung im Kugelhals mit der des Stopfens zusammenfällt, koindiziert. Auf das Rohr des Apparates gibt man, wie in Fig. 57, die Skala, deren Nulllinie mit der Kuppe der Quecksilbersäule zusammenfallen muß, widrigenfalls man durch geringes Neigen des Apparates — die mit der Dichtungsmasse verklebten Löcher durchsticht man mit einer Nadel — die Quecksilbersäule in die angegebene Stellung bringt; man dreht hierauf bei noch geneigter Stellung des Apparates den Stöpsel so, daß die beiden Löcher am Kugelhalse nicht mehr koindizieren. Steht die Quecksilbersäule etwas über der Nulllinie, so bringt man den abgelesenen Betrag an der Skala von der nach der Beendigung der Bestimmung vorhandenen Zahl in Abzug.

Auf den Stöpsel legt man zuletzt das Gewicht. Man überläßt nun den Harn im Apparate der Gärung entweder 24 Stunden bei Zimmertemperatur oder zur Erzielung sicherer Resultate, da die Gärung, auch bei höherem Zuckergehalte, dann in 4–5 Stunden beendet ist, einer Temperatur von 32–38° C, indem man den Apparat am einfachsten in einen Brutschrank oder in Ermangelung eines solchen in ein Wasserbad (in welchem Falle man selbstverständlich die Skala abnimmt) einstellt, das durch ein kleines Gasflämmchen oder Nachtlämpchen mehrere Stunden auf dieser Temperatur gehalten wird; die richtige Entfernung der Flamme vom Boden des Wasserbades kann man vorher ausprobieren.

Nach Beendigung der Gärung, die man daran erkennt, daß die Quecksilbersäule nicht mehr steigt, kühlt man den Apparat auf die Temperatur ab, bei der er gefüllt wurde.

Zur Ablesung enthält der Apparat auf dem abnehmbaren Rahmen 2 Skalen, von denen die eine für 20° C, die andere für 35° C gilt; für die kleineren Zuckergehalte geben die neu verbesserten Skalen direkt die Fünfzigstel-Prozente an; es lassen sich auch noch die Hundertstel-Prozente erkennen. Für die Prozentgehalte von 2% an sind sie in Zehntel-Prozente geteilt; man kann hier die Zuckergehalte bis auf $\frac{1}{20}$ % bequem feststellen. In den meisten Fällen wird man sich nach vorherigem Abkühlen des Apparates ohne merklichen Fehler mit der Ablesung an der rechten, für 20° C gültigen Skala begnügen können. Außerdem, bei genauen Bestimmungen, berechnet man den Prozentgehalt nach folgender Gleichung:

$$p = p_{35} + \frac{p_{20} - p_{35}}{15} (35 - t),$$

worin p den wirklichen Prozentgehalt, p_{20} und p_{35} die Ablesungen an den beiden für 20 und 35° C gültigen Skalen und t die Temperatur, bei der der



Fig. 57.

Harn in den Apparat gefüllt und auf die er abgekühlt wurde (also nicht etwa die Gärungstemperatur!) bedeutet.

Beispiel:

Es wurde abgelesen: $p_{35} = 3,6$ und $p_{20} = 4,0$, $t = 25^{\circ} \text{C}$; demnach ist:

$$p = 3,6 + \frac{4,0 - 3,6}{15} (35 - 25),$$

$$= 3,6 + \frac{0,4}{15} 10 = 3,6 + 0,27 = 3,87\%.$$

In dem Harn wären demnach 3,87% Zucker vorhanden.

Beurteilung.

Der Apparat liefert besonders bei Vornahme der Gärung bei $35\text{--}38^{\circ} \text{C}$ 4 Stunden lang (besser etwas länger stehen lassen) und bei der Verwendung möglichst frischer Hefe sehr gute Resultate ist bequem zu handhaben und leicht zu reinigen; nach Beendigung der Bestimmung dreht man langsam den Stöpsel, bis die Löcher am Kugelhalse wieder übereinanderstehen, saugt den hefe-trüben Harn mit Watte ab, spritzt noch einige Male den Raum über dem Quecksilber mit Wasser aus und entfernt dieses ebenfalls durch Watte. Der Apparat ist dann für eine neue Bestimmung fertig, ohne daß man das Quecksilber zu entfernen braucht. Nach längerem Gebrauch reinigt man den Glasteil mit heißer Sodalösung.

Man muß den Stopfen recht gut und gleichmäßig mit der Dichtungsmasse bestreichen, damit er vollkommen abschließt. Ich habe mich statt der Spritze einer langen dünnen, genauestens kalibrierten Glaspipette zum Abmessen des Harnes bedient.

Man kann auch die Trockenhefe, die man vorher auf ihre Brauchbarkeit geprüft hat, verwenden.

Eine Reihe Autoren, Demant, Ph. Fischer, F. Goldmann, Gregor, Kraft, Schoorl, J. Thomann u. a. können den Lohnsteinschen Apparat aufs beste empfehlen. O. Schumm erhielt genaue Zahlen, wenn er die Versuche bei Brüttemperatur ausführte.

Th. u. R. Lohnstein¹⁾ haben (Fig. 58) ein Gärungs-Saccharometer mit Glycerin-Indicator (Verwendung von Glycerin statt Quecksilber) konstruiert, das sich in den Grundprinzipien



Fig. 58.

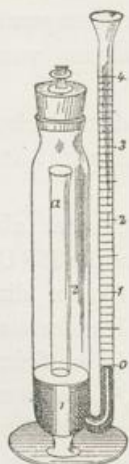


Fig. 59.

seiner Konstruktion an das eben beschriebene anlehnt und sich von diesem dadurch unterscheidet, daß die gärende Flüssigkeit nicht in der Kugel des Apparates, sondern in einem an diese sich anschließenden U-Rohr Platz findet. Die Gebrauchsanweisung liegt dem Apparate bei.

Für Werte unter 1% Zuckergehalt im Harn ist das ältere Präzisions-Gärungssaccharometer genauer; bei höherem Zuckergehalte dürfte kein wesentlicher Unterschied in Beziehung auf die Genauigkeit zwischen dem älteren und dem neueren Apparate bestehen. Als Vorzug dieses Saccharometers ist der Umstand zu betrachten, daß in ihm das Quecksilber durch Glycerin ersetzt ist, wodurch der Apparat weniger zerbrechlich ist.

b) Die Zuckerbestimmung mit dem Fleischerschen Apparat.

Ausführung.

Man verwendet, um von dem verschiedenen Barometerstand und den Schwankungen der Temperatur unabhängig zu sein, von diesem Apparate, dessen Konstruktion aus der Abbildung (Fig. 59)

leicht ersichtlich ist, zwei Exemplare, den einen für die auszuführende Bestimmung, den anderen ganz gleichen, vorher geprüften zur Kontrollbestimmung.

Man füllt in beiden Apparaten den mit 1 bezeichneten Raum mit reinem Quecksilber bis zur Marke 0 (ganz genau), ohne diesen Raum mit der warmen Hand zu berühren. Nun werden

¹⁾ Allgem. med. Zentralztg. 1906. 75. Nr. 22. Separatabdruck. Das Saccharometer ist zu beziehen von H. Noffke & Co.

von dem zu untersuchenden Urin, wenn dieser beim Kochen mit Kali- oder Natronlauge nur gelbe oder ganz schwache Braunfärbung zeigt, 10 ccm genau abgemessen, in ein 100 ccm fassendes Meßkölbchen gebracht und mit Wasser auf 100 ccm aufgefüllt. Von diesem verdünnten Harne werden 10 ccm (= 1 ccm ursprünglicher Harn) in ein Bechergläschen abgemessen, dann wird etwa 1 g frischer zuckerfreier Preßhefe, die jetzt ja sehr rein zu haben ist, dazu gegeben, die Preßhefe mit einem Glasstäbchen verrührt und der Inhalt des Bechergläschens in einem krumm gebogenen Trichter durch die obere Öffnung von 2 in den Raum 2 des Apparates gebracht; das Gläschen spült man mit 10 ccm Wasser nach und gibt dieses durch den Trichter gleichfalls in den Raum 2. (Man muß sich in acht nehmen, nichts in die Röhre *a* zu bringen.) Dann wird der Apparat mit dem Gummikork, dessen Schraube anfangs noch gelöst ist, verschlossen und durch die Anziehung der Schraube völlig luftdicht abgesperrt.

In ganz gleicher Weise wird der Kontrollapparat gefüllt, nur werden statt des Urins 10 ccm einer Traubenzuckerlösung verwendet, die in 1 Liter genau 1 g reinsten Traubenzuckers enthält.

Beide Apparate werden dann an einem warmen Orte entweder in der Nähe des Zimmerofens oder in wissenschaftlichen Instituten in der Nähe des Brütrofens stehen gelassen.

Nach 24 Stunden werden beide Apparate in Wasserleitungswasser von etwa 15° C so gestellt, daß die eingeteilten Röhren nebeneinander stehen und das Niveau des Quecksilberstandes in beiden gut verglichen werden kann.

Durch die bei der Gärung aus dem Zucker entwickelte Kohlensäure, die durch *a* auf das Quecksilber — die Röhre mündet unter der Glasplatte in 1 — drückt, wird die Quecksilbersäule in der Skalenröhre in die Höhe getrieben, und zwar ist diese Steigung bei gleichen Zuckermengen auch eine gleiche oder muß eine gleiche sein. (Man tut deshalb auch gut, die beiden Apparate vor der ersten Verwendung in der angegebenen Weise mit einer Traubenzuckerlösung auf ihre Genauigkeit und ihr Zusammenstimmen einzustellen und zu prüfen).

Steht das Niveau des Quecksilbers in beiden Apparaten vollständig gleich, so enthält der Harn genau 1% Zucker, da in 1 ccm des angewendeten Harnes so viel Zucker vorhanden ist, wie in den 10 ccm der Zuckerlösung = 0,01 g, in 100 ccm Harn mithin 1%; steht das Quecksilberniveau im Kontrollapparat auf 1, im anderen auf 1,5, so enthält der Urin 1,5% Zucker.

Nun muß aber der Harn, wenn er bei der Vorprobe, Kochen mit Kalilauge, braun bis schwarz gefärbt wird, noch mehr verdünnt werden; man verdünnt dann 10 ccm auf 200 ccm und verwendet 10 ccm; in diesem Falle muß man natürlich beim Ablesen und bei der Berechnung der Verdünnung Rechnung tragen; im angezogenen Beispiel müßte die abgelesene Menge verdoppelt werden.

R. Fleischer läßt 1 ccm Harn, ebenso 1 ccm einer 1%igen Zuckerlösung nach dem Zugeben von Hefe und 20 ccm Wasser in den Apparat bringen; ich verwendete die oben angegebenen verdünnten Mengen, um Fehler möglichst auszuschließen.

Beurteilung.

Es ist ja nicht unrichtig, daß diese Methode umständlicher ist, daß man noch einen Kontrollapparat nötig hat und daß auch die Reinigung und Wiederinstandsetzung des Apparates eine zeitraubende ist, gleichwohl konnte ich mich nicht entschließen, diesen Apparat und seine Beschreibung aus dem Buche wegzulassen; mit Hilfe des Fleischerschen Apparates war zuerst eine quantitative Bestimmung des Zuckers durch Gärung ermöglicht worden. Der Apparat war in seinem Prinzip gewissermaßen grundlegend für die nun vorhandenen vorzüglich brauchbaren und handlichen Apparate.

c) Ebenfalls zur quantitativen Zuckerbestimmung sind in letzter Zeit noch mehrere andere Gärungsapparate empfohlen worden.

1. B. Wagner¹⁾ beschreibt seinen „Gärungssaccharomanometer“ benannten Apparat, der nach dem Principe des Lohnsteinschen Apparates hergestellt ist. Hier ist das Gärgesäß mit dem Manometer durch einen Schliff verbunden, wodurch vermieden ist, daß die Gärungsflüssigkeit mit dem Quecksilber in Berührung kommt. Die Reinigung des Apparates ist eine leichte, das Instrument ist auf ein Wandbrett montiert und weniger leicht zerbrechlich. Der Apparat mit Zubehör und Gebrauchsanweisung ist von F. O. R. Goetze in Leipzig, Härtelstraße, zu beziehen.

Die Genauigkeit des Apparates leidet, weil die gärende Flüssigkeit und das U-Rohr mit dem Quecksilber durch einen Luftraum getrennt sind; infolge der Änderungen des Luftvolumens durch Wärmeausdehnung und wechselnde Wasserdampfbildung machen sich die Temperaturschwankungen in viel stärkerem Maße geltend, als bei dem kleinen Luftvolumen des Lohnsteinschen Apparates; ins Wasserbad kann der Apparat nicht eingestellt werden (Goldmann).

2. Das Gärungssaccharometer von Fromme²⁾ ist ganz ähnlich dem Lohnsteinschen Apparat konstruiert; es ist von R. Schoeps in Halle a. S. zu erhalten.

¹⁾ Münch. med. Wochenschr. 1905. 52. 2328.

²⁾ Vierteljahresschr. f. prakt. Pharm. 1905. 400; Pharm. Centrhl. 1907. 48. 128.

Bei diesem Apparate müßte der Kugelschluß derart dicht hergestellt sein, daß ein Gasverlust ausgeschlossen ist. Nach Goldmanns Versuchen waren genaue Ergebnisse mit dem Apparate wegen des undichten Verschlusses nicht zu erzielen.

3. Weidenkaff¹⁾ hat ein Präzisionsaccharometer konstruiert, das nach Versuchen von G. Gregor brauchbar ist. Dieses ist durch die verschiedenen Großhandlungen zu erhalten. Nach J. Thomanns Versuchen versagt dieser Apparat öfters; vielleicht waren die Verschlüsse undicht.
4. A. Basler²⁾ hat ein neues einfaches Gärungssaccharometer empfohlen, das dem Lohnsteinschen Apparate ähnlich ist; hier wird die entwickelte Kohlensäure über gesättigter Kochsalzlösung aufgefangen. Der Apparat ist vom Glasbläser O. Ludwig in Tübingen zu beziehen.

Weitere solche Apparate — sie können unmöglich alle erwähnt werden — haben konstruiert und empfohlen Wiedemann³⁾, W. Reusch⁴⁾, A. Gause⁵⁾, M. Henius⁶⁾, A. Eppeus⁷⁾, J. C. van d. Harst u. C. H. Koers⁸⁾, Lassar-Cohn⁹⁾. — H. Serger¹⁰⁾ gibt eine Beschreibung bekannter Gärungssaccharometer.

Allen diesen Apparaten liegt eine ausführliche Gebrauchsanweisung bei.

Beurteilung.

Nach den Ergebnissen der vergleichenden Versuche, die F. Goldmann¹¹⁾, J. Thomann mit einer Anzahl der zur quantitativen Bestimmung des Harnzuckers empfohlenen Gärungssaccharometer ausführten, ist der Apparat nach Lohnstein, der „lange Lohnstein“, als das vollendetste Saccharometer zu bezeichnen und zu empfehlen.

d) Die Bestimmung mit anderen Gärungsapparaten von Einhorn, Fiebig, Arndt.

Von der Verwendung dieser ist abzuraten, da ihre Handhabung und Instandsetzung dieselbe Arbeit und Zeit in Anspruch nimmt und wegen ihrer zum Teil falschen Einteilung und der wechselnden Absorptionsverhältnisse der Flüssigkeit für die Kohlensäure doch nur ein fehlerhaftes Ergebnis erzielt werden kann.

e) Bestimmung durch Gärung nach der aräometrischen Methode.

Diese schon im Jahre 1861 von Roberts angegebene sog. densimetrische Methode beruht darauf, daß das spez. Gewicht eines zuckerhaltigen Harnes infolge der Gärung abnimmt, was durch das Verschwinden des Traubenzuckers und durch die Bildung des spez. Gewicht erniedrigenden Alkohols bedingt ist. Durch eine Bestimmung des spez. Gewichtes vor und nach der Gärung kann man demnach den Traubenzucker ermitteln. Diese Methode ist von W. Schlosser und Th. Lohnstein¹²⁾ unter Berücksichtigung wesentlicher Punkte so abgeändert worden, daß sie brauchbare Resultate gibt.

Erforderliche Bedingungen.

Es muß für Gleichheit der Temperaturen der Flüssigkeiten bei den spez. Gewichtsbestimmungen gesorgt und ein etwaiger Temperaturunterschied in Betracht gezogen werden. Dann ist zu beachten, daß ein Urin, auch wenn er zuckerfrei ist, schon allein durch den Hefezusatz etwas in seinem spez. Gewicht beeinflußt wird, und endlich muß berücksichtigt werden, inwieweit die durch die Gärung hervorgerufene Erniedrigung der Harnichte dem Zuckergehalte proportional, ob also der Faktor, mit dem man zur Ermittlung des Zuckerprozentgehaltes die Differenz im spezifischen Gewichte zu multiplizieren hat, konstant ist oder nicht. Durch eingehende Versuche hat Lohnstein gefunden, daß als Mittelwert des Faktors für Harn mit höherem Zuckergehalte

¹⁾ Südd. Apoth.-Ztg. 1908. 48. 155.

²⁾ Münch. med. Wochenschr. 1907. 54. 1802. 2486.

³⁾ Ebenda. 1911. 58. 858.

⁴⁾ Ebenda. 1913. 60. 2406.

⁵⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1913. 39. Nr. 37.

⁶⁾ Münch. med. Wochenschr. 1913. 60. 1603.

⁷⁾ Chem. Ztg. 1914. 38. 46.

⁸⁾ Pharm. Weekblad. 1921. 58. 1230.

⁹⁾ Chem. Ztg. 1921. 45. 980.

¹⁰⁾ Zeitschr. öffentl. Chem. 1912. 18. 355.

¹¹⁾ Bericht. der Deutsch. pharm. Gesellsch. 1906. 16. Heft 4. Sonderabdruck.

¹²⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1896. Nr. 6, Allgem. med. Zentralztg. 1898. 67. Nr. 58, Bericht. der Deutsch. pharm. Gesellsch. 1900. 10. 334. Nach übersandtem Separatabdruck aus dem Medizinalkalender der allgem. med. Zentralztg. 1901.

233—234, bei solchen mit Zuckergehalt bis 0,5% der Wert 229—230 in Rechnung zu setzen ist. Die Bestimmung des spez. Gewichtes erfolgt mit dem von Lohnstein konstruierten Präzisionsurometer¹⁾ (Gewichtsurometer), das das spez. Gewicht noch in der vierten Dezimale zu bestimmen gestattet.

a) Verfahren nach Th. Lohnstein (bei größeren Zuckermengen).

60 ccm Urin werden in einen 100 ccm haltenden graduerten Zylinder gefüllt. Ein Stück Preßhefe (2—5 g) wird mit etwa dem Doppelten seines Volumens Wasser zu einem gleichmäßigen Brei in einem passenden Gefäß verrührt; von diesem Brei werden 5—10 ccm zu der im Zylinder befindlichen Harnmenge gebracht, wobei die Flüssigkeit im Zylinder um die zugegebene Hefeflüssigkeitsmenge steigt. Das neue Volumen wird notiert. Von dem entstandenen Hefe-Harn-Gemisch wird mit dem Lohnsteinschen Präzisionsurometer das spezifische Gewicht bestimmt. Hierauf wird die Harn-Hefemischung in einen Kolben oder in eine Medizinflasche (von 200 ccm) gegossen, die, um das Trocknen zu ersparen, vorher mit einigen Kubikzentimetern der Harn-Hefemischung selbst ausgespült waren. Die Flasche wird mit einem Wattepfropf verschlossen und einer Temperatur von 35 bis 38° C ausgesetzt. Unter diesen Umständen ist die Gärung in 4—6 Stunden stets beendet, was sich auch durch die Bildung eines dichten Bodensatzes kundgibt. Die Flüssigkeit wird hierauf durch Schütteln mit der abgesetzten Hefe innig vermennt, auf ungefähr die gleiche Temperatur wie bei der ersten Bestimmung des spez. Gewichtes gebracht und hievon neuerdings das spez. Gewicht bestimmt. Die Berechnung des Zuckergehaltes hieraus wird in folgender Weise vorgenommen: Es seien s_1 und s_2 die beiden spez. Gewichte, v_1 (= 60 ccm) das ursprüngliche Harnvolumen, v_2 das Volumen nach Zusatz der Hefe, 0,234 der Faktor, p die in 100 ccm des hefe-freien Harnes enthaltene Zuckermenge in Grammen, d. h. der gesuchte Prozentgehalt, so ist

$$p = \frac{v_2}{v_1} (s_1 - s_2) \cdot 0,234 \cdot 100.$$

War z. B. $s_1 = 1029,8$, $s_2 = 1017,6$, $v_1 = 60$ ccm, $v_2 = 66$ ccm, d. h. betrug die Vermehrung des Harnvolumens durch den Zusatz des Hefebreies 6 ccm, so ist

$$s_1 - s_2 = 12,2, \text{ daher } p = \frac{66}{60} \cdot 12,2 \cdot 0,234 = 3,14.$$

Differenzen in den Temperaturen der Flüssigkeit bei den beiden spezifischen Gewichtsbestimmungen bis zu 1° können bei größeren Zuckergehalten vernachlässigt werden. Nur für kleine Zuckermengen tut man gut, die Temperatur zu berücksichtigen, wozu ein kleines, in einfache Grade geteiltes Thermometer ausreicht, bei dem man halbe und viertel Grade ja noch schätzen kann. War t_1 die Temperatur bei der ersten, t_2 bei der zweiten spezifischen Gewichtsbestimmung, so trägt man der Temperaturdifferenz $t_1 - t_2$ dadurch Rechnung, daß man zu dem ohne ihre Berücksichtigung ermittelten Zuckerprozentgehalt $0,05 \cdot (t_1 - t_2)$ oder $0,07 \cdot (t_1 - t_2)$ hinzuaddiert, je nachdem t_1 und t_2 zwischen 15 und 20° C oder zwischen 20 und 25° liegen. Wäre z. B. in dem obigen Beispiel $t_1 = 18^\circ$, $t_2 = 19,5^\circ$ gewesen, so hätte man $0,05 \cdot 1,5 = 0,08$ (abgekürzt) von obigen 3,14 in Abzug zu bringen (da $t_1 - t_2$ in diesem Falle = -1,5, d. i. negativ ist); der mit Rücksicht auf die Temperaturdifferenz korrigierte Prozentgehalt wäre also 3,06%.

β) Nach Lohnstein²⁾ (bei voraussichtlich kleinen Zuckermengen).

Eine weitere Art, die in dem Hefezusatz liegende Fehlerquelle unschädlich zu machen, besteht darin, daß man zwei mit verschiedenen Hefemengen versetzte Harnvolumina vergären läßt. Bei diesem Verfahren hat man drei spezifische Gewichtsbestimmungen auszuführen. Als Verhältnis der Hefemengen wählt man der Einfachheit halber 1 : 2. Der Unterschied in den spezifischen Gewichten der beiden mit Hefe versetzten Harnvolumina nach Beendigung der Gärung ist dann offenbar gleich der Änderung, die die kleinere Hefemenge an sich an dem spezifischen Gewicht der Flüssigkeit hervorgebracht hätte, und also von der durch die Vergärung bedingten Erniedrigung des spezifischen Gewichtes in Abzug zu bringen. Im einzelnen gestaltet sich das Verfahren, das in dieser Form natürlich nur bei voraussichtlich kleinen Zuckermengen zur Anwendung gebracht zu werden braucht und bei dem man daher mit geringen Hefemengen auskommt, folgendermaßen:

1. Bestimmung des spezifischen Gewichtes des Urins (s_1).

2. Je 100 ccm des Urins werden mit 1 oder 2 g Preßhefe versetzt, mit ihr gut durchgeschüttelt und im Meßzylinder selbst oder in 100 ccm haltenden Medizinflaschen unter Anwendung von Watteverschlüssen der Gärung überlassen. Nach Beendigung der Gärung wartet man ab, bis die Hefe sich als fester Satz am Boden der Gefäße angesammelt hat, und gießt dann ab. Bestimmung der spezifischen Gewichte s_2' und s_2'' der beiden abgegossenen Flüssigkeiten. Der Zuckergehalt p berechnet sich daraus folgendermaßen:

$$p = 0,229 (s_1 - s_2' - (s_2'' - s_2')) \\ = 0,229 (s_1 + s_2'' - 2s_2').$$

¹⁾ Gewichtsurometer zu beziehen von L. Reimann, Berlin SO, Schmidgasse 32.

²⁾ Nach übersandtem Separatabdruck aus Medizinalkalender 1901.

Die Temperatur muß dabei für alle drei spezifischen Gewichtsbestimmungen die gleiche sein; bis auf Bruchteile eines Grades ist das leicht zu erreichen, die kleinen noch verbleibenden Differenzen berücksichtigt man auf Grund der Tatsache, daß zwischen 15 und 20° jeder Temperaturgrad das spezifische Gewicht des Urins (Wasser = 1000 gesetzt) annähernd um 0,2 und zwischen 20 und 25° annähernd um 0,3 erniedrigt. Am besten wird das Gesagte durch ein Zahlenbeispiel erläutert:

1. Spezifisches Gewicht des Urins s_1 bei 18° C = 1023,4.
2. Spezifisches Gewicht s_2' der nach Beendigung der Gärung von 100 ccm mit 1 g Hefe versetzten Urins abgegossenen Flüssigkeit bei 18,5° C = 1021,6.
3. Spezifisches Gewicht s_2'' der nach Beendigung der Gärung von 100 ccm mit 2 g Hefe versetzten Urins abgegossenen Flüssigkeit bei 17,5° C = 1021,7.

s_2' und s_2'' werden zunächst auf die Temperatur 18° C reduziert und nehmen dadurch die Werte 1021,7 und 1021,6 an. Daher ist $s_1 + s_2'' - 2s_2' = 1,6$ und der gesuchte Prozentgehalt $p = 1,6 \cdot 0,229 = 0,37\%$.

Ein von J. Schütz empfohlenes Aräosaccharimeter zur Ermittlung des spezifischen Gewichtes des Harnes vor und nach der Gärung kann zur Verwendung bei genauen und exakten Bestimmungen nicht empfohlen werden.

Das Gärösaccharoskop von Citron¹⁾ führt die alte aräometrische Methode nach Roberts in einen Ablesapparat über. Es ist von der Firma Richard Kallmayer & Co. in Berlin N, Oranienburgerstraße 45 zu beziehen.

Die von Lohnstein berechneten Schwankungen des Faktors nach Roberts können hier aber nicht berücksichtigt werden; weitere Nachteile sind die vorgeschriebene große Menge Hefe, die große benötigte Harnmenge und der dem Aräometer anhaftende Fehler der Kapillarität, der bei diesem Apparat prinzipiell vorhanden ist, da das Urin-Hefegemenge vor und nach der Gärung notwendigerweise verschiedene Kapillaritätskonstanten aufweisen muß (Goldmann).

f) Bestimmung des Harnzuckers mit Hilfe des Refraktometers.²⁾

Prinzip.

Die Bestimmung beruht auf der Tatsache, daß auch der optische Brechungsindex einer zuckerhaltigen Flüssigkeit durch die Gärung eine dem Zuckergehalte annähernd proportionale Verminderung erleidet, wobei alle bei dem densimetrischen Verfahren angegebenen Umstände (Temperatur, Hefeeinfluß usw.) zu berücksichtigen sind.

Die Methode gibt aber viel weniger genaue Ergebnisse, als die densimetrische, da der Brechungsindex durch gleichen Zuckergehalt eine viel geringere Abnahme erfährt, als das spezifische Gewicht.

Weiter ist empfohlen worden, den erhaltenen im Asbeströhrchen gesammelten Kupferoxydniederschlag in Salpetersäure zu lösen, den Asbest auszuwaschen, die salpetersaure Kupfernitratlösung einzudampfen und den Rückstand genau in 5 ccm 2%iger Salpetersäure vom bestimmten Eintauchrefraktometerwert zu lösen; in der genau bei 17,5° auf 10 ccm aufgefüllten Lösung wäre der Eintauchrefraktometerwert bei gleicher Temperatur zu ermitteln.

H. Matthes erwähnt, daß diese Art der Bestimmung jedenfalls keine schnellere genannt werden kann; sie wird auch wohl kaum eine genauere sein.

Das Eintauchrefraktometer (s. S. 31) liefert die Firma Zeiss in Jena.

Ein Verfahren mit dem Saccharorefraktometer gibt P. Dilg³⁾ an.

Wahl der Methode.

Die Bestimmung mit dem von Lohnstein konstruierten Gärungssaccharometer in erster Linie, dann das von dem gleichen Autor verbesserte densimetrische Verfahren geben brauchbare Resultate. Damit soll nicht gesagt sein, daß nicht etwa neu konstruierte und empfohlene Gärungssaccharometer nicht brauchbar wären. Ich möchte nur raten, neue Apparate erst genau zu prüfen.

3. Zuckerbestimmung durch Titrieren.

a) Titrieren nach Fehling.

Das Prinzip der Titration mit Fehlingscher Lösung beruht auf der bei der Trommerschen Probe angegebenen Reaktion.

¹⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1905. 31. 1753.

²⁾ Grober u. Strubell, Zentralbl. f. innere Mediz. 1900. 21. Nr. 8, Verhandl. des Kongresses f. inn. Med.

³⁾ Münch. med. Wochenschr. 1921. 68. 46.

Bedingungen sind:

Der Harn muß frei von Eiweiß und Schwefelwasserstoff sein; ferner muß der Harn in der Weise verdünnt werden, daß er nicht mehr als 1% — besser weniger — Zucker enthält, wozu bemerkt sein mag, daß man im allgemeinen¹⁾ bei einem spezifischen Gewichte des Harnes von 1,030 mit der fünffachen, bei einem höheren mit der zehnfachen Verdünnung des Harnes auskommen wird. Harn mit geringem Zuckergehalte wäre zu konzentrieren. Hauptsache zum Gelingen des Versuches ist, daß die Zuckerlösung (der zuckerhaltige Harn) möglichst auf einmal in die Fehlingsche Flüssigkeit eingetragen wird. Besonders auch für die titrimetrischen Methoden möchte ich die Verwendung des nach S. 296 vorbereiteten Harnes empfehlen. Als ganz exakte Methode kann die Zuckerbestimmung durch Titrieren nicht bezeichnet werden.

Man denke daran, daß im Harn vorhandene Pentosen ebenfalls Reduktion der Fehlingschen Lösung veranlassen; von der Anwesenheit oder der Abwesenheit der Pentosen wird man sich deshalb vorher zu überzeugen haben.

Die Fehlingsche Lösung — Kupfersulfat und Seignettesalzlösung — wird getrennt aufbewahrt und erst beim Gebrauche zu genau gleichen Teilen gemischt. Mit vier Teilen Wasser verdünnt und gekocht darf diese Lösung kein Kupferoxydul abscheiden.

Sehr wichtig ist, daß man den Wirkungswert der Fehlingschen, wie auch der weiteren Lösungen (Knapp, Sachsse) erst mit einer genau 0,5%igen Traubenzuckerlösung bestimmt und hie und da die Lösungen kontrolliert.

Darstellung dieser Lösungen.

1. Fehlingsche Lösung.

Kupfersulfatlösung. Chemisch reiner Kupfervitriol des Handels wird einmal aus verdünnter Salpetersäure, dreimal aus Wasser umkrystallisiert, zwischen Fließpapier trocken gepreßt und dann 12 Stunden an der Luft liegen gelassen. Die Lösung muß genau 34,639 g dieses umkrystallisierten reinen Kupfervitriols ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) in 500 ccm dest. Wasser enthalten.

Die alkalische Seignettesalzlösung enthält 173 g Seignettesalz und 53 g Ätznatron in 500 ccm Wasser.

2. Traubenzuckerlösung.

0,5 g reiner im Exsiccator getrockneter Traubenzucker wird in genau 100 ccm destillierten Wassers gelöst. Sind die Lösungen richtig bereitet, so wird man bei der Bestimmung des Wirkungswertes derselben mit der Zuckerlösung von letzterer genau 20 ccm brauchen. (Ausführung wie nachstehend.)

Ausführung.

Man mißt mit einer Meßpipette oder läßt noch besser aus einer genau kalibrierten Bürette genau 20 ccm der unmittelbar vor dem Gebrauche genau zu gleichen Teilen abgemessenen und gemischten Lösung von Kupfersulfat und Seignettesalz in eine tiefere Porzellanschale (es gibt besondere Schalen mit Stiel) fließen und verdünnt mit dem vierfachen Volumen Wasser.

Das wie S. 296 bei der Vorbereitung des Harnes zur Polarisation gewonnene wasserhelle Filtrat (den mit gleichem Teile Wasser verdünnten Harn) füllt man direkt, oder wenn der Zuckergehalt ein großer ist, erst nach noch weiterer Verdünnung in eine Bürette mit Quetschhahn oder Glashahn, die man an einem Gestelle so anbringt, daß man aus der Bürette den Harn bequem in die auf einem Drahtnetze befindliche Porzellanschale, die die verdünnte und kochende Fehlingsche Lösung enthält, einfließen lassen kann.

Durch einige Vorversuche hat man zuerst zu ermitteln, welches Volumen von der gereinigten Harnlösung zum Herbeiführen der Endreaktion, zum völligen Reduzieren der 20 ccm Fehlingscher Lösung nötig ist.

Man erhitzt die verdünnte Fehlingsche Lösung zum beginnenden Kochen, läßt von dem entfärbten Harn zunächst 5 ccm zufließen und einige Sekunden kochen und wartet dann, bis sich der Niederschlag von Kuperoxydul einigermaßen abgesetzt hat und man die Farbe der darüberstehenden Lösung erkennen kann. Ist die Lösung noch blau, so fügt man noch 1 ccm der Harnlösung zu und so fort, bis die Flüssigkeit über dem entstandenen roten Niederschlag von Kuperoxydul eben farblos geworden ist.

¹⁾ Nach einer von Naunyn angegebenen Wahrscheinlichkeitsskala kann man unter Berücksichtigung des spezif. Gewichtes und der Harnmenge den Prozentgehalt an Traubenzucker annähernd abschätzen.

Tägliche Harnmenge	Spez. Gew.	Zuckergehalt.
1500 ccm	1,030	1—2% Traubenzucker
3000 ccm	1,025	3—4% „
3000 ccm	1,030	5% und darüber „
6000—8000 ccm	1,030	8% und darüber „
		20*

Man kann bei diesem Vorversuche die ungefähre Menge des zuzusetzenden Harnes erfahren. Man fährt in dem Anstellen der Versuche — selbstverständlich stets mit einer frischen Harnmenge fort, bis bei zwei Versuchen, bei welchen nur eine um 0,1 ccm verschiedene Harnmenge angewendet wurde, in dem einen Falle noch eine Spur Kupfer, in dem anderen keine solche mehr zu erkennen ist; durch Neigen der Flüssigkeit kann man, da als Hintergrund die weiße Schalenwand dient, leicht erkennen, ob noch eine Blaufärbung vorhanden oder ob sie verschwunden ist. Ein dritter Versuch wird dann ein sicheres Resultat ergeben; es ist aber bei dem Hauptversuch absolut nötig, daß die Harnmenge möglichst auf einmal zur Fehlingschen Lösung zugesetzt und der Versuch schnell beendet wird. Bei langsamem Arbeiten und bei längerer Dauer des Versuches ist durch den Luftsauerstoff eine abermalige Oxydation des Oxyduls und Lösung dieses in dem beim Kochen des Harnes mit Lauge aus dem Harnstoffe sich bildenden Ammoniak zu befürchten. Durch die Vorprobe kann man auch ersehen, ob der Harn zuviel verdünnt ist oder ob er noch mehr verdünnt werden muß. Zur Reduktion von 20 ccm Fehlingscher Lösung sollen, wenn die Bestimmung richtig ausfallen soll, 10–20 ccm des Harnes verbraucht werden.

1 ccm der Fehlingschen Lösung = 0,005 g Zucker (d-Glykose).

Beispiel.

Bis zur Endreaktion wurden für die angewendeten 20 ccm Fehlingscher Lösung (= 0,1 g Zucker) verbraucht 20 ccm von dem Harn, der fünffach verdünnt worden war; also sind in 4 cm ursprünglichen Harnes = 0,1 g Zucker enthalten; der Harn enthält somit $4 : 0,1 = 100 : x$.

$$x = 2,5\% \text{ Zucker.}$$

Die Erkennung der Endreaktion erfordert etwas Übung. Man muß sich nämlich gewöhnen, schnell zu sehen, ob die über dem sich absetzenden Kupferoxydul vorhandene Flüssigkeit noch blau ist; die empfohlene, bei anderen Zuckerbestimmungen ja brauchbare Resultate gebende Prüfung zur Erkennung der Endreaktion mit Ferrocyankalium — dieses gibt in dem mit Essigsäure angesäuerten Filtrate vom ausgeschiedenen Kupferoxydul oder mit einem auf Filtrierpapier gebrachten und mit Essigsäure angesäuerten Tropfen der Flüssigkeit bei Anwesenheit von Kupfer eine Braunfärbung — ist beim Harn nicht gut brauchbar, da beim Kochen des Harnes mit der Lauge sich aus dem Harnstoffe stets Ammoniak entwickelt, das Kupferoxydul in Lösung hält und dann mit Ferrocyankalium reagiert. Auch eisenhaltige Harnes — Diabetikerharnes enthalten meist mehr Eisen — machen die Anwendung dieser Endreaktion unmöglich.

Übrigens ist leicht an der Farbe des Filtrates zu ersehen, ob die Endreaktion eingetreten ist oder nicht. Blaufärbung des Filtrates zeigt an, daß zu wenig, Gelbfärbung, daß zu viel von dem Harnes zugesetzt wurde.

Manchmal gelingt es, durch einen kleinen Zusatz von Chlorcalcium die Flüssigkeit so zu klären, daß die Farbe dieser besser zu sehen ist. Man kocht nochmals auf und beobachtet; der entstehende Niederschlag von weinsäurem Kalk reißt das suspendierte Kupferoxydul mit nieder (Munk).

b) Titrieren nach Soxhlet.¹⁾

Nach Soxhlet reduzieren 50 ccm unverdünnter Fehlingscher Lösung 23,75 ccm einer 1%igen Traubenzuckerlösung bei einer zwei Minuten betragenden Kochdauer.

Ausführung.

Durch Vorversuche hat man den Zuckergehalt des Harnes annähernd festgestellt und eine etwa 1% Zucker enthaltende Lösung bereitet. Man verwendet das Filtrat von dem, wie angegeben, vorbereiteten Harnes. Enthält der Harn wenig Zucker, so konzentriert man das Filtrat von einer abgemessenen, entsprechend größeren Harnmenge.

50 ccm der unverdünnten Fehlingschen Lösung werden in der Schale zum Kochen erhitzt; in diese läßt man etwa 23 ccm der ungefähr 1%igen Lösung aus einer Bürette auf einmal einfließen; man erhält dann genau zwei Minuten lang im Kochen. Ist die Lösung oder das Filtrat (doppeltes Faltenfilterchen) blau oder grünlich, so wiederholt man den Versuch mit einer größeren Menge der Zuckerlösung; ist das Filtrat gelb, so setzt man 1 ccm der Zuckerlösung weniger zu. Man fährt in der Anstellung der Versuche fort, bis zwei Versuche, bei welchen nur um 0,1 ccm verschiedene Harnmengen angewendet werden, Filtrate geben, von denen das eine kupferhaltig, das andere kupferfrei ist. 50 ccm Fehlingsche Lösung = 0,2375 g Traubenzucker, 1 ccm = 0,00475 g Zucker.

c) Jodometrische Bestimmungen.

Von E. Riegler²⁾, dann von K. B. Lehmann³⁾ wurden zur Harnzuckerbestimmung Verfahren nach dem zuerst von E. de Haën⁴⁾ befolgten angegeben; diese beruhen darauf, daß im

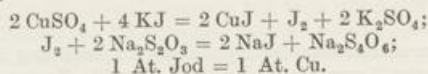
¹⁾ Journ. prakt. Chem. (N. F.) 1880. 21. 227. 289.

²⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1898. 37. 22.

³⁾ Archiv Hyg. 1898. 30. 267.

⁴⁾ Liebigs Annal. 1854. 91. 237

Filtrate von der Kupferoxydulausscheidung der nicht verbrauchte Kupfergehalt auf jodometrischem Wege ermittelt wird; durch Zugabe von Schwefelsäure und Jodkalium zum Filtrate wird eine der Menge des vorhandenen Kupfers proportionale Menge Jod frei, die durch Natriumthiosulfat bestimmt wird.



F. Lehmann, E. Rupp und F. Lehmann¹⁾ brachten eine Abänderung dieses Verfahrens.

Zu dem von diesen befolgten Wege bemerkt schon F. N. Schulz²⁾, daß die Reduktion bei Verwendung der Allihnschen Zuckertabelle genau nach der Vorschrift vorzunehmen ist, die für die betreffende gravimetrische Bestimmung nach Pflüger-Allihn gültig ist, da die zu gleichen Kupfermengen zugehörigen Zuckermengen ganz von den Versuchsbedingungen abhängen.

Darauf weisen auch Ruos³⁾, E. Schowalter⁴⁾ und C. Frerichs u. E. Mannheim⁵⁾ hin; letztere sagen, daß das Verfahren an sich fehlerfrei ist, daß nur die Allihnsche Tabelle hier einer Richtigestellung bedarf. Rupp und Lehmann lassen 15 ccm Kupferlösung verwenden, Allihn hat seine Tabelle unter Verwendung von 30 ccm Kupfersulfatlösung berechnet; man müßte, wie dies von Schoorl⁶⁾ geschah, die Tabelle berechnen, nach Frerichs und Mannheim soll man sie aber entbehren können, wenn man mit einem Mittelwert rechnet (1 ccm $\frac{n}{10}$ Thiosulfatlösung = 3,33 mg Traubenzucker), wobei der Fehler der Berechnung im ungünstigsten Falle nur $\frac{1}{20}$ der Traubenzuckermenge beträgt.

1. Ausführung der Bestimmung nach Frerichs und Mannheim.

Einstellung der Kupfersulfatlösung.

Man kocht ein Gemisch von 15 ccm Kupfersulfatlösung, 15 ccm alkalischer Tartratlösung (also Fehlingscher Lösung, s. S. 307) und 50 ccm Wasser etwa 2 Minuten lang, kühlt ab, setzt 2,5 g Jodkalium, 25 ccm verdünnte Schwefelsäure (1 + 5), 50 ccm Wasser und 10 ccm Stärkelösung hinzu und titriert mit $\frac{n}{10}$ Thiosulfatlösung (S. 119).

Bestimmung des Traubenzuckers im Harn.

Man verdünnt 10 ccm Harn mit 20 ccm Wasser, erhitzt ein Gemisch von 15 ccm Kupfersulfatlösung, 15 ccm alkalischer Tartratlösung und 35 ccm Wasser oder ein Gemisch von 15 ccm Kupfersulfatlösung, 5 g Kaliumnatriumtartrat, 9 ccm 15%iger Natronlauge und 40 ccm Wasser zum Sieden, läßt 10 ccm verdünnten Harn zufließen, erhitzt von neuem, erhält die Flüssigkeit etwa 2 Minuten im Sieden, kühlt ab, setzt 2,5 g Jodkalium, 25 ccm verdünnte Schwefelsäure, 50 ccm Wasser und 10 ccm Stärkelösung zu und titriert mit $\frac{n}{10}$ Thiosulfatlösung. Liegt der gefundene Zuckergehalt unter 1% oder über 3,5%, so wiederholt man die Bestimmung in der oben angegebenen Weise mit 10 oder 20 ccm unverdünntem Harn oder mit 5 ccm verdünntem Harn. Wenn man 10 oder 20 ccm unverdünnten Harn verwendet, dann hat man die im Harn enthaltene geringe Menge an Jod reduzierenden Substanzen zu berücksichtigen, indem man die gleiche Menge Harn mit 2–3 ccm verdünnter Schwefelsäure und 5 ccm Stärkelösung versetzt, mit $\frac{n}{10}$ Jodlösung titriert und die verbrauchte Anzahl ccm Jodlösung von der bei der Bestimmung erhaltenen Thiosulfatzahl in Abzug bringt.

2. Verfahren nach J. Bang.⁷⁾

Prinzip.

Das Kupferoxydul wird hier direkt jodometrisch bestimmt; das Oxydul muß aber in Lösung gehalten werden, was durch Verwendung einer reichlichen Menge Kaliumchlorid geschieht, wodurch ein komplexes Kupro-Kaliumchlorid gebildet wird, das beim Verdünnen mit Wasser unter Ausscheidung von Kupferoxydul hydrolytisch dissoziiert wird. Da das gelöste Kupferoxydul besonders in der Wärme von der Luft rasch oxydiert wird, muß man abkühlen, ohne daß Luft Zutritt. $\text{CuCl} + \text{KCl} + \text{J} = \text{CuCl}_2 + \text{KJ}$. Empfehlenswert ist es, die jodbindenden Stoffe des Harnes durch Blutkohle-Alkohol (Seite 274) zu entfernen. Bei einem, wie es gewöhnlich der Fall ist, strohgelb gefärbten Harn spielen diese Stoffe keine Rolle, dunkelgefärbter Harn muß aber unbedingt entfärbt werden.

Erforderliche Lösungen.

1. Die Kupferlösung enthält 2,65 g Kupfersulfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) und 100 g Kaliumbikarbonat (KHCO_3); diese Salze werden zuerst in einem 2 L.-Kolben mit Hilfe von etwa 1 L.

¹⁾ Archiv Pharm. 1909. 247. 516; Apoth.-Ztg. 1909. 24. 73.

²⁾ Neubauer-Huppert, Analyse des Harnes. C. W. Kreidel, Wiesbaden 1910.

³⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1916. 55. 1.

⁴⁾ Zeitschr. Unters. Nahrungs- u. Genußmitt. 1918. 36. 180; 1919. 38. 221.

⁵⁾ Archiv Pharm. 1916. 254. 138.

⁶⁾ Zeitschr. angew. Chem. 1899. 633.

⁷⁾ Lehrbuch der Harnanalyse. J. F. Bergmann, Wiesbaden 1918.

Wasser gelöst; schließlich kommen noch 60 g Kaliumcarbonat (K_2CO_3) und 450 g Kaliumchlorid (KCl) hinzu. Nach Auflösung der Salze füllt man mit Wasser bis zur Marke auf. Die Lösung ist haltbar.

2. Eine $n/25$ Jodlösung.

Ausführung.

Man bringt 55 ccm der alkalischen, fertiggestellten Kupferlösung in einen 100 ccm fassenden Kolben von Jenaer Glas, setzt 2 ccm Harn, der nicht über 1% Zucker enthalten darf, hinzu und erhitzt die Mischung über dem Drahtnetze bis zum Sieden. Den Kolben hat man mit einem Stopfen mit Bunsenventil (Seite 76) verschlossen. Zum Beginne des Siedens sollen etwa $3\frac{1}{2}$ Minuten nötig sein; man läßt die Flüssigkeit beinahe 3 Minuten kochen; während des Kochens entweicht Wasserdampf durch die Spaltöffnung des Gummischlauches, nach Entfernung des Brenners schließt der Überdruck der Luft die Öffnung; die oben erwähnte Oxydation wird verhindert. Nach dem Abkühlen des Kolbens entfernt man den Stopfen, setzt 8–10 Tropfen Stärkelösung und von einer $n/25$ Jodlösung soviel ccm hinzu, bis die Farbe in tiefultramarinblau umschlägt; ein Schütteln der Flüssigkeit vermeidet man und beschränkt sich auf ein leises Umrühren. Trotzdem die Flüssigkeit beim Durchsehen blau gefärbt ist, kann man den Umschlag sehr leicht bis auf einen Tropfen Jodlösung genau beobachten. Zur Berechnung der Zuckermenge bedient man sich folgender Tabelle:

mg Zucker	ccm $n/25$ Jodlösung	mg Zucker	ccm $n/25$ Jodlösung
1	0,73	6	4,15
2	1,45	7	4,85
3	2,20	8	5,50
4	2,95	9	6,20
5	3,65	10	6,93

1 mg Zucker = 0,7 ccm Jodlösung. Annähernd richtige Werte kann man auch durch Division der verbrauchten Menge Jod mit 0,73 erhalten.

Beurteilung.

Nach Bang bestehen die Vorteile der Methode gegenüber der von Lehmann darin, daß man das reduzierte Oxydul direkt bestimmt und nicht aus der Oxydmenge im Überschuß berechnet, und daß weiter der Jodverbrauch ein geringer ist. Mit Ausnahme des Verfahrens von Bertrand, das Bang als einfach, bequem und genau bezeichnet, fallen die Ergebnisse genauer aus, als bei den meisten anderen Verfahren. Die Methode besitzt endlich gegenüber sämtlichen anderen den Vorzug, daß man selbst minimale Zuckermengen ebenso genau oder sogar noch genauer wie größere bestimmen kann. Diabetischen Harn soll man vorher mit 10 Vol. Wasser verdünnen.

3. Die jodosaccharometrische Methode nach H. Citron.¹⁾

Das Prinzip ist das gleiche wie bei der Titrationsmethode nach Lehmann. Es ist von Schoorl 1899 angegeben worden.

Citron hat eine Bürette mit automatischer Füllung und Nullpunkteinstellung ohne Bürettenhalter konstruiert, deren graduierter Fassungsraum auf 27,8 ccm bemessen ist; der tiefste Punkt ist mit 0% bezeichnet; diese 27,8 ccm wurden gewählt, da die 20 ccm Fehlingscher Lösung so viel Kupfer enthalten, daß die auf Jodkaliumzusatz freierwerdende Jodmenge durch 27,8 ccm $1/10$ n-Thiosulfatlösung gebunden wird; 20 ccm Fehlingscher Lösung = 176 mg Cu = 90 mg Zucker = 9 g Zucker in 100 ccm Harn bei Anwendung von 1 ccm Harn für die Bestimmung.

Der Zwischenraum an der Bürette vom obersten Punkt bis zum tiefsten (0%) ist in Abständen von etwa 0,1% der Allihnschen Tabelle entsprechend graduirt, so daß jede Berechnung in Wegfall kommt.

Erforderliche Lösungen sind:

- 173 g Seignettesalz löst man in 250 ccm Wasser unter Erwärmen auf, trägt 50 g Natriumhydrat in Stücken ein, filtriert, läßt erkalten und abkühlen und füllt auf 500 ccm auf.
- 34,639 g reinster Kupfervitriol werden zu 500 ccm Wasser gelöst.
- $1/10$ n-Thiosulfatlösung. Diese bereitet man aus der Normallösung. 50 ccm werden mit Wasser auf 500 ccm aufgefüllt; es wird 1 g Ammoniumcarbonat in Substanz zugegeben. Letzteres soll verhindern, daß Kupferjodür in Lösung geht.
- 20% ige Jodkaliumlösung, in dunkler Flasche verwahrt.
- Natriumbisulfat.
- Stärkelösung; man stellt sich diese aus der löslichen Stärke her.

Zur Ausführung der Bestimmung mißt man in die Porzellanschale mit Stiel sorgfältig 20 ccm Fehlingscher Lösung und 1 ccm Harn — bei geringem Zucker- und starkem Harnsäuregehalte fand Citron es zweckmäßig, den Harn durch Tierkohle zu filtrieren und 2 ccm Harn zu verwenden, Resultat durch 2 teilen —, erhitzt zum Sieden und läßt $1\frac{1}{2}$ Minuten schwach kochen;

¹⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1904. 30. 1603.

den Schaleninhalt gießt man auf das gut in den Trichterhals eingesteckte Filter, das wenig gepulverten Bimsstein enthält. Der kurz abgeschnittene Trichter befindet sich in einem Glas, das zwei Teelöffel voll Natriumbisulfat enthält und in eine mit kaltem Wasser gefüllte Schale gestellt ist. Die Porzellanschale füllt man bis zum dritten Teil mit destilliertem Wasser, kocht abermals und wäscht mit dem siedenden Wasser das nunmehr fast leere Filter aus. Ein weiteres Auswaschen ist unnötig. Nach dem Abkühlen des Filtrates gibt man 5–10 ccm Jodkaliumlösung zu und rührt kräftig um; es muß ein dicker, lehmartiger Niederschlag entstehen, andernfalls ist noch etwas Natriumbisulfat zuzusetzen.

Nunmehr bringt man das Glas mit der Flüssigkeit unter die auf neun eingestellte Bürette, läßt langsam die Thiosulfatlösung zutropfen, bis die Färbung etwas hell wird, gibt Stärkelösung hinzu und öffnet die Schraube so weit, daß in der Sekunde etwa 2 Tropfen austreten. Beginnt die Flüssigkeit unter kräftigem Rühren momentan ins Weißliche umzuschlagen, um sich rasch wieder blau zu färben, so legt man Daumen und Zeigefinger der linken Hand an das Schlauchstück oberhalb der Schraube, läßt durch Fingerdruck immer je 5 Tropfen auf einmal zufließen und rührt nach jedesmaligem Zusatz kräftig um.

Sobald der sehr prägnante Umschlag in Weiß stattgefunden und, ohne nachzubläuen, eine Minute angehalten hat, schließt man die Schraube und liest das Resultat ab. Der Apparat — das Jodosaccharometer — ist zu beziehen von der Firma R. Kallmayer & Co. in Berlin.

Ein Glukometer benannter Apparat wird ebenfalls von Citron¹⁾ beschrieben; das Verfahren beruht auf dem von Bang angegebenen.

Beurteilung der jodosaccharometrischen Probe.

Gibt im allgemeinen für klinische Zwecke brauchbare Ergebnisse.

d) Die Titriermethode nach Pavy.²⁾

1. Ausführung nach H. Sahli.³⁾

Prinzip.

Es wird eine ammoniakalische Kupferlösung verwendet, die das ausgeschiedene Kupferoxydul in Lösung hält.

Erforderliche Lösungen:

Lösung 1:

Krystallisiertes reines Kupfersulfat.	4,158 g
Destilliertes Wasser	ad 500 ccm

Lösung 2:

Seignettesalz.	20,4 g
Reines Ätzkali.	20,4 g
Ammoniak (spez. Gew. 0,88).	300,0 g
Destilliertes Wasser	ad 500 ccm.

Man mischt zum Gebrauche je 5 ccm von Lösung 1 und 2 und erhält damit 10 ccm einer Flüssigkeit, die vollkommen der ursprünglichen Pavyschen Lösung entspricht und von der also 10 ccm 0,005 g Glykose entsprechen.

In einem Erlenmeyerkölbehen von 75–100 ccm Inhalt werden 10 ccm Pavyscher Lösung, oder je 5 ccm der Lösung 1 und 2 mit einer Pipette genau abgemessen und 30 ccm destillierten Wassers hinzugefügt. Das Kölbehen wird auf einem mit Asbest durchspinnenen Drahtgeflechte auf einen Dreifuß von etwa 20 cm Höhe über einen Brenner, der regulierbar ist, gestellt. Wenn man kein solches Drahtgeflecht besitzt, kann man statt dessen auch dünnen Asbestkarton oder eine Schale aus Eisen oder Nickel benutzen, deren Boden mit einer einige Millimeter dicken Schicht von gebrannter Magnesia bedeckt ist. Der Asbest oder die Magnesia dienen dazu, beim Kochen die Hitzeeinwirkung zu mäßigen und außerdem für die Feststellung der Farbenveränderung einen weißen Hintergrund abzugeben. Der zu untersuchende Urin oder eine Verdünnung desselben — die genauesten Resultate erhält man, wenn man die Verdünnung des Harnes so wählt, daß man davon 5–10 ccm zusetzen muß, um die verwendete Menge von 10 ccm Pavyscher Lösung zu reduzieren, es entspricht dies einem Zuckergehalte der Verdünnung von $\frac{1}{2}$ – $1\frac{0}{100}$ — wird in eine Bürette mit Quetschhahn gefüllt und diese in einem Stative oder Bürettenhalter seitwärts vom Dreifuß aufgestellt. Man erhitzt das Kölbehen mit Inhalt und reguliert die Größe der Flamme derart, daß die Flüssigkeit zwar deutlich, aber nicht zu stark siedet. Dann nimmt man die Bürette in die Hand und setzt nun vorsichtig, die allmähliche Entfärbung beobachtend, entweder in rascher Tropfenfolge oder in ganz kleinen Güssen von dem verdünnten Harn zur Kupferlösung; man reguliert das Zufließen in der Weise, daß das Kochen niemals unterbrochen

¹⁾ Münch. med. Wochenschr. 1918. 65. 1053.

²⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1880. 19. 98; Schweiz. Wochenschr. f. Chem. u. Pharm. 1901. 321.

³⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1905. 31. 1417.

wird; nötigenfalls muß auch noch während der Bestimmung selbst die Flammengröße reguliert werden. Im Anfange kann der Zusatz rasch, nachher, wenn man in die Nähe der Endreaktion (Entfärbung) kommt, muß er immer vorsichtiger und langsamer geschehen, da man sonst leicht über die Endreaktion hinausgeht, weil gegen das Ende hin die Reduktion träger erfolgt als im Anfange. Gewöhnlich ist die Endreaktion, d. h. die völlige Entfärbung der siedenden Flüssigkeit leicht und scharf zu erkennen. Man hält sich bei der Beurteilung der Entfärbung am besten an die hellstimmernden, lichtstarken Reflexe, die das Kölbchen infolge der totalen Reflexion des durch die Flüssigkeit fallenden Lichtes an gewissen Stellen darbietet. Diese sollen wegen des weißen Untergrundes, auf dem das Kölbchen steht, bei der völligen Entfärbung der Flüssigkeit vollkommen weiß oder farblos erscheinen.

Die Berechnung ist eine sehr einfache. Sind z. B. für die 10 ccm der Pavyschen Lösung 7 ccm des Harnes, der 4fach verdünnt worden ist, verbraucht, so entspricht dies:

$$7 : 0,005 \text{ Glykose} = 100 : x; \quad x = 0,0714 \cdot 4 = 0,2856\% \text{ Zucker.}$$

Beurteilung.

Man nimmt die Bestimmung am besten in der folgenden Modifikation von Kumagawa-Suto vor.

2. Ausführung der Pavyschen Methode nach Kumagawa-Suto.¹⁾

Es wird ein Entweichen von Ammoniakdämpfen durch eine besondere Vorrichtung verhindert und eine Oxydation des Oxyduls verhindert. Es wird die Einwirkung der Luft ausgeschlossen.

Erforderliche Lösungen:

1. Krystallisiertes Kupfersulfat 4,278 g wird mit Wasser auf 1 Liter gelöst.
2. 21 g Seignettesalz, 21 g Ätzkali, 300 ccm konz. Ammoniaklösung (spez. Gew. 0,880) werden mit Wasser zu 1 Liter aufgefüllt.

Zum Reduzieren wird ein Rundkolben mit am Halse seitlich angeschmolzenem Rohre verwendet (Fig. 60). Die Bürette, in der der Harn sich befindet, ist an einem Gestell in der Weise angebracht, daß die Spitze durch einen Gummistopfen in den Hals des Kolbens mündet. Der Kolben wird mit dem Stopfen fest verschlossen. Um das Verschwinden der blauen Farbe deutlich zu erkennen, ist hinter dem Kolben eine weiße Porzellanplatte angebracht. Das erwähnte Ansatzrohr wird durch einen dickwandigen Schlauch mit einem rechtwinklig gebogenen Glasrohr von möglichst langer Mündung verbunden; dieses Glasrohr ist unten mit einem Glasschwimmer als Ventil versehen und taucht in eine in einem etwa 500 ccm fassenden Erlenmeyerkolben befindliche Lösung von etwa 50 ccm konz. Schwefelsäure, 100 ccm Wasser und 1—2 ccm 10%iger Kupfersulfatlösung. Der Glasschwimmer mit Ventil verhindert das Zurücktreten von Flüssigkeit und von Luft in den Reduktionskolben; die Schwefelsäure dient zum Binden des Ammoniaks. Das Ableitungsrohr geht durch einen im Erlenmeyerkolben befindlichen Kork. In diesem Kork befindet sich noch ein kleines Glasrohr zum Entweichen von Luft usw.

20 ccm der Kupfersulfatlösung (genau abpipettiert) und 20 ccm der alkalischen Seignettesalzlösung werden in den wie angegeben verschlossenen Reduktionskolben gebracht und erhitzt, um die Luft aus dem Kolben zu entfernen. Hierauf wird die Flamme so reguliert, daß die Lösung nur schwach siedet, um das Entweichen von zu viel Ammoniak und ein Ausscheiden von Kupferoxydul zu vermeiden und zu verhindern. Man läßt nun aus der Bürette von dem vorbereiteten Harn (am besten wird er so verdünnt, daß er etwa

¹⁾ Schulz, Neubauer-Huppert, Analyse des Harnes. C. W. Kreidel, Wiesbaden 1910. Festschrift für A. Salkowski 1904. 211.

0,2% Zucker enthält (Kinoshita¹⁾) 2—3 ccm in der Minute zufließen so lange, bis die blaue Farbe fast, doch noch nicht ganz verschwunden ist. Man wartet etwa 2 Minuten und gibt noch 1—2 Tropfen hinzu und so fort, bis die blaue Farbe eben vergangen ist; wird zu viel Harn zugesetzt,

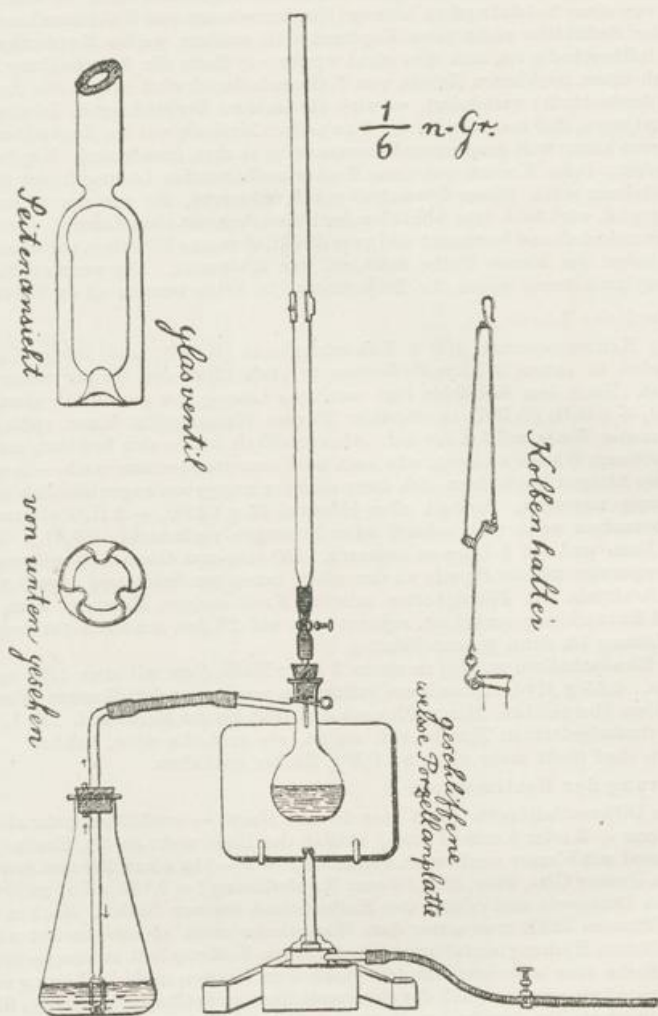


Fig. 60.

so entsteht Gelbfärbung des Kolbeninhaltes, die aber auch, wenn zu viel Ammoniak entwichen ist, eintreten kann. 40 ccm der ammoniakalischen Lösung = 0,01 g Zucker.

Beurteilung.

In dieser Ausführung ist die Methode zuverlässig und brauchbar.

¹⁾ Biochem. Zeitschr. 1908. 9. 219.

e) Bestimmung nach J. Bang.¹⁾ (Hydroxylaminverfahren.)

Prinzip.

Weißes Kupferrhodanür ist bekanntlich leicht löslich in fixen Alkalien; deswegen gelingt die Ausfällung des Kupferoxyduls als Rhodanür durch Zusatz von Rhodankalium zur Fehlingschen Lösung nicht. Wohl aber geht, wie Bang gefunden hat, diese Ausscheidung vor sich, wenn an Stelle der fixen Alkalien in der Lösung nur Carbonate vorhanden sind. So scheidet sich bei der Verwendung von einer Soldainschen Lösung (Kupfercarbonat und Kaliumcarbonat) mit Rhodankalium bei der Reduktion nicht rotes Kupferoxydul, sondern weißes Kupferrhodanür aus, das vollkommen luftbeständig ist, sich also nicht wieder oxydiert; die Ausscheidung ist eine quantitative. Durch einen reichlichen Zusatz von Kaliumrhodanid wird zudem die Ausscheidung von Oxydul (Kupferrhodanür) verhindert, es wird als farblose Verbindung in Lösung gehalten. Es steht nichts entgegen, daß man wie bei der Pavyschen Methode mit der Zuckerlösung bis zur Entfärbung titrieren kann; weit genauer und bequemer ist es aber, immer noch Kupferoxyd im Überschuß zu haben. Beim Kochen mit einer Zucker enthaltenden Lösung findet folglich nur eine teilweise Entfärbung statt. Dieser Überschuß von Kupferoxyd, der von der vorhandenen Zuckermenge abhängig ist, wird nach dem Abkühlen der Flüssigkeit mit einer Lösung von schwefelsaurem Hydroxylamin reduziert und bestimmt und zwar direkt, ohne eine Filtration vornehmen zu brauchen. Das Verschwinden der blauen Farbe markiert den Endpunkt. Die verbrauchten Kubikzentimeter Hydroxylaminlösung geben die Zuckermenge in Milligrammen an (s. Tabelle S. 315).

Erforderliche Lösungen.

1. 500 g Kaliumcarbonat, 400 g Kaliumrhodanid (KCNS) und 100 g Kaliumbicarbonat (KHCO_3) werden in einem 2 Liter-Meßkolben in etwa 1200 ccm Wasser unter Erwärmen bei etwa 60° gelöst. Nach dem Abkühlen fügt man eine Lösung von genau 25 g gereinigten Kupfervitriols ($\text{CuSO}_4 + 5\text{H}_2\text{O}$) (S. 307) in ungefähr 150 ccm Wasser gelöst hinzu, spült nach und füllt genau in bekannter Weise auf 2 Liter auf. Als vorteilhaft hat es sich bewährt, erst die 100 g Bicarbonat in 1300 ccm Wasser zu lösen, was auch bei Zimmertemperatur rasch — in einigen Minuten — erfolgt. Die übrigen Salze lösen sich dann nachher zugegeben augenblicklich auf. Jetzt wird die Kupferlösung zugesetzt. Anstatt aber jedesmal 25 g $\text{CuSO}_4 + 5\text{H}_2\text{O}$ abzuwägen, ist es zu empfehlen, besonders wenn man schnell seine Lösungen verbraucht, 166,67 g $\text{CuSO}_4 + 5\text{H}_2\text{O}$ in Wasser zu lösen und auf 1 Liter zu ergänzen. 150 ccm von dieser Kupferlösung werden dann bei Zimmertemperatur mit der Pipette zu der schon bereiteten Salzlösung zugefügt, wonach man durch leises Schütteln die Flüssigkeiten mischt. Nach einigen Minuten, wenn die schwache Kohlendioxyd-Entwicklung vorbei ist, ergänzt man auf 2 Liter, schüttelt gut durch und filtriert gleich. Die Lösung ist dann gebrauchsfertig.

2. 200 g Rhodankalium werden in einem 2 Liter Meßkolben mit etwa 1500 ccm destillierten Wassers gelöst. 6,55 g Hydroxylaminum sulfuricum werden in destilliertem Wasser gelöst und in den Meßkolben übergeführt. Man spült nach und füllt bis zur Marke auf. Die Lösung verwahrt man in einer dunkelgefärbten Flasche auf; sie ist, wie auch die erste, haltbar.

Der Harn darf nicht mehr als etwa 0,5% Zucker enthalten.

Ausführung der Bestimmung:

Mit einer Differentialpipette führt man 10 ccm Harn (— enthält er mehr als 0,6% Zucker, nur 5 oder 2 ccm + 5 oder 8 ccm Wasser; enthält der Harn mehr als 3% Zucker, so muß man erst entsprechend mit Wasser verdünnen, vielleicht 1 + 9 —) in einen 200 ccm fassenden Kolben, am besten aus Jenaer Glas, über, läßt 50 ccm Kupferlösung (= 0,156 g Cu) zufließen, stellt den Kolben auf das Drahtnetz und erhitzt den Kolbeninhalt bis zum Sieden. Nach einer Kochdauer von genau 3 Minuten kühlt man unter dem Wasserhahn rasch ab und titriert mit der in einer Bürette befindlichen Hydroxylaminlösung, bis der blaue Kolbeninhalt farblos (gelblich) geworden, bis die blaue Farbe eben verschwunden ist. Nach dem Kochen muß die Lösung noch blau sein: eine Entfärbung würde anzeigen, daß der zugesetzte Harn zuviel Zucker enthielte; die Bestimmung muß mit dem noch weiter verdünnten Harne wiederholt werden.

Beurteilung.

Die Bangsche Methode liefert nach dem Ergebnis der Nachprüfung gute Werte. H. Laveson²⁾, H. Jessen-Hansen³⁾, A. C. Anderson⁴⁾, P. Dilg⁵⁾ empfehlen diese Methode als eine sehr geeignete. Alle erwähnen, daß man genau nach der Vorschrift arbeiten muß; nach H. Jessen-Hansen wird das Hinzufügen der Titrierflüssigkeit am besten so geregelt, daß

¹⁾ Biochem. Zeitschr. 1906. 2. 271; Berl. klin. Wochenschr. 1907. 44. 216. Methode der Zuckerbestimmung, Verlag von J. Springer, Berlin 1908. Biochem. Zeitschr. 1911. 32. 443.

²⁾ Biochem. Zeitschr. 1907. 4. 40.

³⁾ Chem. Ztg. Repert. 1909. 33. 418.

⁴⁾ Ebenda. 1909. 33. 418; Biochem. Zeitschr. 1910. 26. 157.

⁵⁾ Münch. med. Wochenschr. 1908. 55. 1279.

Vollständige Reduktionstabelle.

Hydroxylaminlösung verbraucht	mg Zucker	Hydroxylaminlösung verbraucht	mg Zucker
0,75	60,0	25,00	24,1
1,00	59,4	25,50	23,5
1,50	58,4	26,00	22,9
2,00	57,3	26,50	22,3
2,50	56,2	27,00	21,8
3,00	55,0	27,50	21,2
3,50	54,3	28,00	20,7
4,00	53,4	28,50	20,1
4,50	52,6	29,00	19,6
5,00	51,6	29,50	19,1
5,50	50,7	30,00	18,6
6,00	49,8	30,50	18,0
6,50	48,9	31,00	17,5
7,00	48,0	31,50	17,0
7,50	47,2	32,00	16,5
8,00	46,3	32,50	15,9
8,50	45,5	33,00	15,4
9,00	44,7	33,50	14,9
9,50	44,0	34,00	14,4
10,00	43,3	34,50	13,9
10,50	42,5	35,00	13,4
11,00	41,8	35,50	12,9
11,50	41,1	36,00	12,4
12,00	40,4	36,50	11,9
12,50	39,7	37,00	11,4
13,00	39,0	37,50	10,9
13,50	38,3	38,00	10,4
14,00	37,7	38,50	9,9
14,50	37,1	39,00	9,4
15,00	36,4	39,50	9,0
15,50	35,8	40,00	8,5
16,00	35,1	40,50	8,1
16,50	34,5	41,00	7,6
17,00	33,9	41,50	7,2
17,50	33,3	42,00	6,7
18,00	32,6	42,50	6,3
18,50	32,0	43,00	5,8
19,00	31,4	43,50	5,4
19,50	30,8	44,00	4,9
20,00	30,2	44,50	4,5
20,50	29,6	45,00	4,1
21,00	29,0	45,50	3,7
21,50	28,3	46,00	3,3
22,00	27,7	46,50	2,9
22,50	27,1	47,00	2,5
23,00	26,5	47,50	2,1
23,50	25,8	48,00	1,7
24,00	25,2	48,50	1,3
24,50	24,6	49,00	0,9

Für jeden $\frac{1}{10}$ ccm Hydroxylaminlösung Mehrverbrauch, als in der Tabelle angeführt, wird zwischen 49,00—15,00 0,1 mg Zucker und zwischen 15,00—1,0 0,2 mg Zucker von dem entsprechenden Zuckerwerte subtrahiert.

20 ccm im Laufe von 15 Sekunden zugesetzt werden; man nimmt die Titration bei etwa 32° C vor. Von Anderson wird die Entfernung der Stoffe, die ebenfalls reduzieren, empfohlen; dies halte ich besonders bei einzelnen Harnen für notwendig; die Eigenreduktion des Harnes ist nach A. am größten bei Fieberharn, am kleinsten bei Diabetikerharn; A. empfahl zuerst Bleiacetat, dann Mercurinitrat (50 ccm Harn + 25 ccm der Mercurinitratlösung, 10% ige Natronlauge bis zur Neu-

tralisation und Verdünnen auf 100 ccm), später die Verwendung von Mercuriacetat, das C. Neuberg¹⁾ verwendet, der die Bangsche Methode empfiehlt und bemerkt, daß mit ihr, was Bequemlichkeit und Genauigkeit anbelangt, nur das Verfahren Pavy-Kumagawa-Suto-Kinoshita konkurrieren kann. Siehe S. 274 u. 296.

J. Bang und G. Bohmannsson²⁾ nehmen die Reinigung des Harnes in folgender Weise vor: 20 ccm Harn werden mit 5 ccm 25%iger Salzsäure und 2 g Blutkohle (feuchte oder bei 100° vollständig entwässerte und pulverisierte) versetzt. Man schüttelt einigemal während 5 Minuten und filtriert.

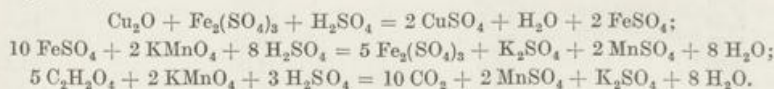
C. Funck³⁾ will etwas zu hohe Werte, bis 0,7%, erhalten haben; J. Tolenaar⁴⁾ hält die Methode weder für leicht ausführbar, noch für ganz zuverlässig; dieses Urteil ist nicht ganz zutreffend.

f) Titriermethode nach G. Bertrand.⁵⁾

Nach G. Sonntag⁶⁾ war dieses Verfahren im Prinzip schon vor Bertrand bekannt und von Sonntag auf Grund der älteren Angaben bereits vor Jahren besprochen worden.

Prinzip.

Das beim Kochen mit einer im Überschuß zugegebenen Fehlingschen Lösung abgeschiedene, ausgewaschene Kupferoxydul wird in einer Lösung von Ferrisulfat in Schwefelsäure gelöst und das entstandene Ferrosalz mit einer Permanganatlösung von bekanntem Gehalte (mit Ammoniumoxalat eingestellt) titriert.



Erforderliche Lösungen.

1. 40 g reines kryst. Kupfersulfat werden in Wasser gelöst und auf 1 Liter aufgefüllt.
2. 200 g reines Seignettesalz, 150 g Natriumhydroxyd in Stangen werden in Wasser gelöst und auf 1 Liter aufgefüllt.
3. 50 g Ferrisulfat werden in Wasser gelöst, 200 ccm konz. Schwefelsäure hinzugegeben und mit Wasser zu 1 Liter aufgefüllt. Die Lösung muß frei sein von Ferrosulfat und von anderen reduzierenden Stoffen.
4. 5 g Kaliumpermanganat werden zu 1 Liter Wasser gelöst.

Die Kaliumpermanganatlösung wird auf ihren Wirkungswert mit Ammoniumoxalat ($\text{C}_2\text{O}_4(\text{NH}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) geprüft. 0,250 g (genau gewogen) dieses Salzes werden in einem Erlenmeyerkolben mit 100 ccm Wasser und 2 ccm reiner konz. Schwefelsäure auf 60–70° erwärmt und mit der Permanganatlösung titriert, bis Rosafärbung eintritt. 1 Mol. Ammoniumoxalat ($142,1 = 2\text{Fe} = 2\text{Cu} = 127,2\text{ Cu}$) oder die Menge Kaliumpermanganatlösung, die 1 g Ammoniumoxalat oxydieren kann, entspricht nach der Gleichung $142,1 : 127,2 = 1 : x$; $x = 0,8951 = 0,8951\text{ g}$ Kupfer.

Ausführung der Bestimmung.

In einen Erlenmeyerkolben von 150 ccm Inhalt bringt man 20 ccm der höchstens 100 mg, am besten 10–90 mg Zucker enthaltenden Lösung und dazu je 20 ccm der Kupfer- und der Seignettesalzlösung. Man erhitzt zum Kochen und läßt genau 3 Minuten ruhig, nicht zu heftig siedend. Nach dem Absetzen des gebildeten Kupferoxyduls — die darüber stehende Flüssigkeit muß noch blau sein — bringt man die Flüssigkeit — aber möglichst wenig vom Kupferoxydulfällungsschlag — auf ein Asbestfilter, saugt gut ab, wäscht den Niederschlag im Kolben mit lauwarmem destilliertem Wasser aus, läßt den Niederschlag immer mit absetzen und gießt das Waschwasser durchs Asbestfilter. Zum Niederschlage, dem abgeschiedenen Kupferoxydul im Kolben, setzt man allmählich unter Umschütteln, ohne zu erwärmen, etwa 20 ccm (5–20 ccm) der Ferrisulfatlösung, wodurch das Kupferoxydul gelöst wird; die schön grüne Lösung gießt man langsam durch das wieder auf die sehr gut gereinigte Saugflasche gebrachte Filter, um auch die darauf befindliche Menge von Kupferoxydul zu lösen. Kolben und Filter werden gut mit kaltem Wasser ausgewaschen; die in der Saugflasche befindliche Flüssigkeit, d. h. die Menge des gebildeten Ferro-

¹⁾ C. Neuberg, Der Harn I. J. Springer, Berlin 1911.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1909. **63**. 443.

³⁾ Ebenda. 1908. **56**. 507.

⁴⁾ Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. 1907. I. 1013.

⁵⁾ Bull. soc. chim. Paris 1906. **35**. 1285; H. Schulz, Analyse des Harnes von Neubauer-Huppert, Wiesbaden 1910; Jahresber. Fortsch. d. Tierchem. 1907. **36**. 67.

⁶⁾ Biochem. Zeitschr. 1913. **53**. 501; Arb. Kaiserl. Ges. Amt. 1903. **19**. 447.

sulfates, wird mit der Permanganatlösung sofort und schnell titriert, um eine Oxydation des Ferrosulfates zu vermeiden, bis ein Umschlag von Grün in Rosa erfolgt ist. Der Umschlag ist scharf und gut zu erkennen.

Wenn zu konzentrierte Harne vorliegen, ist die Oxydulausscheidung oft eine unvollständige; in solchen Fällen hilft man sich nach Bang mit einer Behandlung des Harnes mit Blutkohle und Alkohol oder man nimmt den entsprechend vorbereiteten Harn (Seite 296).

Berechnung.

Man berechnet die als Oxydul ausgefällte Kupfermenge dadurch, daß man die der verbrauchten Permanganatlösung entsprechende Menge Ammoniumoxalat berechnet. Dieser Wert mit $\frac{63,6 \cdot 2}{142,1} = 0,8951$ multipliziert ergibt die Kupfermenge.

Für 0,250 g Ammoniumoxalat wären z. B. 22 ccm Permanganatlösung verbraucht worden; 0,25 Ammoniumoxalat = 0,2218 g Cu; 1 ccm der Permanganatlösung dann = 0,01001 g Kupfer.

Bertrand hat folgende Tabelle zur Berechnung des Zuckergehaltes aus dem Kupfergehalte angegeben.

Cu in mg	Glykose in mg	Cu in mg	Glykose in mg	Cu in mg	Glykose in mg	Cu in mg	Glykose in mg
20,4	10	64,6	33	105,8	56	144,5	79
22,4	11	66,5	34	107,6	57	146,1	80
24,3	12	68,3	35	109,3	58	147,7	81
26,3	13	70,1	36	111,1	59	149,3	82
28,3	14	72,0	37	112,8	60	150,9	83
30,2	15	73,8	38	114,5	61	152,5	84
32,2	16	75,7	39	116,2	62	154,0	85
34,2	17	77,5	40	117,9	63	155,6	86
36,2	18	79,3	41	119,6	64	157,2	87
38,1	19	81,1	42	121,3	65	158,8	88
40,1	20	82,9	43	123,0	66	160,4	89
42,0	21	84,7	44	124,7	67	162,0	90
43,9	22	86,4	45	126,4	68	163,6	91
45,8	23	88,2	46	128,1	69	165,2	92
47,7	24	90,0	47	129,8	70	166,7	93
49,6	25	91,8	48	131,4	71	168,3	94
51,5	26	93,6	49	133,1	72	169,8	95
53,4	27	95,4	50	134,7	73	171,4	96
55,3	28	97,1	51	136,3	74	173,1	97
57,2	29	98,9	52	137,9	75	174,6	98
59,1	30	100,6	53	139,6	76	176,2	99
60,9	31	102,3	54	141,2	77	177,8	100
62,8	32	104,1	55	142,8	78		

Beurteilung.

F. N. Schulz¹⁾ hat die Methode nachgeprüft; er findet sie leicht und rasch ausführbar und genau. Euler, C. Funck²⁾, Else Hirschberg³⁾ empfehlen sie ebenfalls; A. C. Anderson⁴⁾ J. Bang und G. Bohmannsson⁵⁾ fanden sie weniger brauchbar. Doch sagt J. Bang in seinem Lehrbuche der Harnanalyse wieder, daß das Bertrandsche Verfahren einfach, bequem und außerdem genau ist, weshalb es auch recht häufig angewendet wird. Die Methode gibt allerdings mit reinen Zuckerlösungen sehr gute Zahlen; im Harne bei dessen verschiedener Zusammensetzung liegen die Verhältnisse eben, wie bei den anderen Verfahren, auch hier anders. Die Methode ist aber brauchbar und gibt unter Beachtung der gegebenen Vorsichtsmaßregeln gute Werte. Man koche nicht zu stark und aber auch nicht zu wenig.

¹⁾ l. c.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1908. 56. 507; 1910. 69. 72.

³⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1913. 86. 484.

⁴⁾ Biochem. Zeitschr. 1909. 15. 76.

⁵⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1909. 63. 443.

g) Titrieren nach Reischauer.

Zur titrimetrischen Bestimmung kann man sich auch mit Erfolg, nachdem man durch eine vorläufige Titration bis auf 1–2 ccm die für 5 ccm Fehlingscher Lösung nötige Harnmenge ermittelt hat, des Reischauerschen Titrationsverfahrens — des Reischauerschen Sternes — bedienen. Dieser besteht aus einem Stativ, an dem in Klemmvorrichtungen sechs dünnwandige, I–VI bezeichnete Reagenzgläser sich befinden (Fig. 61).



Fig. 61.

Man bringt in jedes Glas mit einer Meßpipette oder aus einer Bürette 5 ccm der Fehlingschen Lösung, verdünnt mit 20 ccm Wasser und fügt je nach dem Ausfall der Vorprobe zum Inhalte die entsprechende Harnmenge aus einer Bürette. Hat man z. B. für 20 ccm Fehlingscher Lösung etwa 20 ccm Harn verbraucht, so wird man in Glas I 4 ccm, in Glas II 4,5 ccm, in Glas III 5 ccm, in Glas IV 5,5 ccm usw. des Harnes geben. Man stellt das Stativ mit dem Harn 15 Minuten in ein kochendes Wasserbad und sieht nach dieser Zeit, ob und in welchem Glase Reduktion stattgefunden hat; ist z. B. in Glas IV (5,5 ccm) noch eine blaue Färbung der Flüssigkeit vorhanden, während sie in Glas III (5 ccm) verschwunden ist, so ist erwiesen, daß die Menge Harn, die 5 ccm Fehlingscher Lösung zu reduzieren imstande ist, zwischen 5,0–5,5 liegen muß. Man wiederholt den Versuch in der Weise, daß man in das Glas I zur Fehlingschen Lösung 5 ccm, ins Glas II 5,1 ccm, ins Glas III 5,2 ccm, ins Glas IV 5,3 ccm, ins Glas V 5,4 und ins Glas VI 5,5 ccm von dem Harn gibt und wieder 15 Minuten erhitzt. Man erfährt dann leicht, wo die Reduktion vollkommen erfolgt ist.

1 ccm Fehlingscher Lösung = 0,005 g Traubenzucker (genauer 0,00494 g).

G. O. Gaebel benützt zum Nachweis, ob noch Kupfer, Kuprionen vorhanden sind, die Eigenschaft des Kupfersalzes, aus Jodkalium Jod auszuschcheiden; man gibt etwas Jodkalium hinzu, schüttelt um, säuert mit Schwefelsäure an und gibt Stärkelösung zu. Blaufärbung zeigt noch vorhandenes Kupfer an.

Beurteilung.

Die Methode gibt, zumal wenn man entsprechend vorbereiteten Harn (S. 296) anwendet und wenn man etwas eingearbeitet ist, recht gute Ergebnisse.

h) Eine von A. Duhomme¹⁾ veröffentlichte Bestimmungsmethode des Traubenzuckers mit Fehlingscher Lösung haben L. Vanino und F. Berteles²⁾ einer Nachprüfung unterzogen, da dieses in Vergessenheit geratene Verfahren, auch unter dem Namen „Limousin“³⁾ bekannt, auf Grund ihrer Nachprüfung durch die Einfachheit der Hilfsmittel, der Handhabung und Berechnung des Ergebnisses sich auszeichnet.

Der sog. Limousinsche Apparat besteht aus 2 Tropfenzählern, die genauestens geeicht sein müssen; der eine ist für den Harn bestimmt und auf 1 ccm geeicht, der andere dient für das Abmessen des Reagens, 2 ccm Fehlingscher Lösung von der üblichen genau hergestellten Zusammensetzung (Seite 307).

Die getrennt hergestellten Lösungen (Kupfersulfat- und Seignettesalzlösung) werden vor dem Gebrauch zu genau gleichen Teilen gemischt. 2 ccm der Fehlingschen Lösung werden durch 0,950 ccm einer 1%igen Traubenzuckerlösung, 2 ccm der Fehlingschen Lösung + 2 ccm Wasser durch 0,974 ccm einer 1%igen Traubenzuckerlösung und 2 ccm Fehlingscher Lösung durch 1,914 ccm einer 0,5%igen Traubenzuckerlösung reduziert.

Zur Vornahme der Bestimmung muß man, kurz erwähnt,

1. genau 1 ccm von dem zu prüfenden, eiweißfreien Harn mit dem Tropfenzähler, der Harnpipette, in Tropfen auszählen und die gefundene Zahl notieren;

2. bringt man dann 2 ccm Fehlingscher Lösung in ein Reagenzglas; durch Verdünnen mit dem gleichen Volumen Wasser kann man den Endpunkt der Reaktion leichter erkennen. Die Fehlingsche Lösung erhitzt man zum Sieden und gibt tropfenweise aus der Harnpipette solange Harn dazu, bis die blaue Farbe des Reagens gerade zum Verschwinden gebracht wird. Der End-

¹⁾ Répert. d. pharm. 1874. S. 67; Bullet. général d. therap. 1875. 90. 163. 214. 261; Bullet. et memoir. d. therapeut. le 28. II. 1876.

²⁾ Archiv Pharm. 1917. 225. 134; E. Berteles, Dissert. Erlangen 1920.

³⁾ Limousin, ein Apotheker, hat die nötige Apparatur in den Handel gebracht. Der Limousinsche Apparat wurde in Deutschland durch die Salomons-Apotheke in Leipzig, durch die Firma Warmbrunn u. Quilitz in Berlin, dann durch die Sächsische Verbandstoffabrik in Radebeul bei Dresden und Apotheker Arnold Wolf in Hamburg hergestellt und in den Handel gebracht. Gebrauchsanweisung usw. sollen beigegeben sein.

punkt der Reaktion läßt sich durch Beobachten im durchfallenden Lichte und kurzes Absetzenlassen des Kupferoxyduls erkennen. Die verbrauchten Tropfen Harn werden aufgezeichnet.

Duhome hat seinerzeit zur einfachen Berechnung des Zuckergehaltes eine Tabelle ausgearbeitet, die die Verf. noch erweitert haben. Ohne die Tabelle zu benutzen, gibt eine einfache Division den Prozentgehalt an Zucker an. Z. B. 1 ccm Harn liefert 21 (XXI) Tropfen; zur Reduktion sind 23 Tropfen nötig, dann enthält der Harn $\frac{21}{23} = 0,913\%$ Harnzucker.

Bei einem Gehalte von 0,5—1,0% Traubenzucker leistet das Verfahren am meisten an Genauigkeit. Für eine völlig einwandfreie Bestimmung ist es unerlässlich, den Harn nach einer Vorprüfung auf einen Gehalt von etwa 1% Traubenzucker zu bringen, da bekanntlich nach Soxhlets Untersuchungen der Verdünnungsgrad der Lösung, sowie längere oder kürzere Dauer des Erhitzens das Reduktionsverhältnis verschieben. Die Verdünnung ist bei der Berechnung nicht zu vergessen. Was das Instrumentarium betrifft, so ist die völlige Gleichmäßigkeit der Tropfen während eines Versuches die Grundlage des Verfahrens. Bei dem Einflusse der konstanten Abtropffläche auf die Tropfengröße muß das Ende der Kapillaren glatt und scharf abschneiden; der Durchmesser der letzteren darf nicht mehr als 3 mm betragen, wenn ein Tropfenzähler 1 ccm Wasser in 20—25 Tropfen zerlegen soll. Nach Duhome soll 1 ccm Wasser bei 15° C = 20 Tropfen betragen, 1 Tropfen demnach 0,05 ccm.

Nach dem Urteil von Vanino u. Bertele ist die alte Methode von Duhome — einwandfrei konstruierte Harntropfpipette vorausgesetzt — auf Grund des Ergebnisses zahlreicher Untersuchungen als ein einfaches und brauchbares Verfahren zu betrachten.

i) Eine Schnellmethode, ein Schätzungsverfahren, auf der Trommerschen Probe beruhend, gibt O. Mayer¹⁾ an.

Erforderlich sind 1—2 graduierte Zylinder von 100 ccm Inhalt mit Glasstopfen, Natronlauge von 15%, eine Lösung von 25 g reinem Kupfersulfat im l. dest. Wassers, 2 Meßzylinder oder Pipetten zu 10 ccm, 1 Bürette zu 50 ccm im Stativ.

Ausführung. 10 ccm Harn werden in dem Standzylinder mit 10 ccm Natronlauge versetzt; die Mischung wird mit destilliertem Wasser auf 50 ccm aufgefüllt; hiezu läßt man unter leichtem Umschütteln portionenweise die Lösung von Kupfersulfat aus der Bürette zufließen, bis der das Ende der Reaktion ankündigende Niederschlag nach kurzem, kräftigem Durchschütteln größtenteils wieder in Lösung gegangen und eine gerade wahrnehmbare, jedoch bleibende und beim Stehen etwas zunehmende Trübung der Mischung eingetreten ist. Jeder Kubikzentimeter der Kupfersulfatlösung entspricht unter obigen Bedingungen 0,1% Traubenzucker. Von Harnen, welche mehr als 4% Zucker enthalten, nimmt man zweckmäßig nur 5 ccm in Arbeit, während von weniger als 0,5—1% Zucker enthaltenden Harnen 20 ccm zur Titration abgemessen werden; im übrigen verfährt man wie oben und verdoppelt bzw. halbiert nur die gefundenen Mengen Kupferlösung. Die jeweilige Berechnung des Zuckergehaltes aus der verbrauchten Anzahl Kubikzentimeter Kupferlösung = n ergibt sich aus folgenden Beispielen:

Harn	Berechnung	n CuSO ₄	Zucker
20 ccm	$\frac{0,1 n}{2}$	14 ccm	0,7 Proz.
10 ccm	0,1 n	23 ccm	2,3 Proz.
5 ccm	0,1 n × 2	29 ccm	5,8 Proz.

Der mit Lauge versetzte und auf das 2,5—10fache verdünnte Urin zeigt nur in dem nicht gerade häufigen Falle einer ungewöhnlich hohen Konzentration eine flockige Ausscheidung von Erdphosphaten. Da hiedurch die Empfindlichkeit des Umschlages gestört werden könnte, so vermischt man 20 ccm Urin mit 20 ccm Natronlauge, verdünnt auf 100 ccm, filtriert durch ein Faltenfilter und führt die Titration mit 50 ccm des klaren Filtrates aus. Im übrigen bedürfen nur stark getrübe Harne einer vorherigen Filtration. Größere, schon durch die Biuretreaktion erkennbare Eiweißmengen sind durch Kochen zu beseitigen. Als einzige Schwierigkeit verbleibt somit für den mit der Methode noch wenig Vertrauten die Erkennung des Endpunktes der Reaktion. Doch auch darüber kommt man hinweg, wenn man zunächst in einem Vorversuche einige Kubikzentimeter Kupferlösung im Überschuße, also bis zur deutlichen Trübung²⁾ zugibt, wodurch man die Höchstmenge Kupferlösung kennen lernt. Beim Hauptversuche merkt man sich dann den Punkt, bei welchem das frisch gefällte Kupferhydroxyd noch klar gelöst wird; zwischen den so ermittelten Höchst- und Mindestwerten liegt

¹⁾ Archiv Hyg. 1919. 88. 184; Münch. med. Wochenschr. 1917. 64. 1222.

²⁾ Schon nach kurzem Stehen wird hiebei ein flockiger Niederschlag zu Boden fallen.

die wirklich verbrauchte Menge Kupferlösung, die hierauf durch die Endtitration unschwer gefunden wird.

Es sind unter anderen noch folgende titrimetrische Methoden empfohlen worden, die auf dem Principe der Fehlingschen Titrationsmethode beruhen.

Methode von R. T. Williamson¹⁾ (Gerrard).

Von Borroughs, Wellcome & Co. werden Tabletten (Soloids) in den Handel gebracht mit einer bestimmten Menge von Kupfersulfat (0,034 g) und Seignettesalz; diese zwei Soloids geben eine Lösung, die 1,0 ccm Fehlingscher Lösung und somit 0,005 g Zucker entspricht. Ein weiteres Soloid besteht aus Kalium cyanic, und hat den Zweck, das Ausscheiden des Kupferoxyduls zu verhindern.

Man gibt 2,0 ccm Wasser in das Reagenzrohr und löst darin die 2 Soloids von Kupfersulfat und Seignettesalz; in derselben Lösung löst man unter Erwärmen 1 Soloid von Kalium cyanic. In die kochende Lösung tropft man rasch aus einer Bürette den nötigenfalls zweckentsprechend verdünnten Urin, bis die blaue Farbe der Lösung verschwindet. Die verbrauchte Harnmenge enthält dann 0,005 g Zucker.

Von der Firma E. Merck werden Tabletten zur Zuckerbestimmung im Harn in den Handel gebracht, die einen bestimmten Wirkungswert (1 Paar Tabletten = 0,01 g Zucker) besitzen. Kupfersalz und Alkali bilden je eine besondere Tablette. Auch nach den Versuchen von J. Thomann, F. Dietze kann man mit Hilfe dieser Tabletten den Zucker mit genügender Genauigkeit im Harn bestimmen; man muß sich aber genau nach den Angaben richten, die in einer Broschüre von der Firma Merck niedergelegt sind. Diese Broschüre mit einer Farbenscheibe zur leichteren Erkennung der Farbtöne, sowie einer Tabelle, aus der der Zuckergehalt bei Anwendung verschiedener Mengen Harn und Reagenztabletten ersichtlich ist, ist den Tabletten beigegeben.

E. P. Laval²⁾ benützt die Eigenschaft der Löslichkeit des Kupferoxyduls im Überschuß von Alkali, um eine völlig farblose Flüssigkeit zu erhalten und um eine Störung beim Endpunkte der Reaktion auszuschließen. In eine Porzellanschale bringt man 5 oder 10 ccm Fehlingsche Lösung, 30 ccm Natronlauge (1:3) und 50 oder 60 ccm Wasser, erhitzt und gibt nach und nach von der Zuckerlösung hinzu. Die Operation ist beendet, sobald der letzte Tropfen die blaue Farbe der Fehlingschen Lösung verschwinden läßt.

S. Haines gibt eine quantitative Zuckerbestimmung an, die ähnlich der Pavyschen ist. Das Reagens besteht aus 8,314 g Kupfersulfat in 400 ccm Wasser, 40 ccm Glycerin, 500 ccm einer 5%igen Kaliumhydratlösung und Wasser, bis 1000 ccm erreicht sind. Von dieser Lösung werden 10 ccm mit 30 ccm starkem Ammoniakwasser gemischt und gelinde mit dem Harn gekocht. Die Reduktion und Entfärbung dieser 10 ccm entspricht 0,01 g Dextrose.

H. Benedict³⁾, E. Harrison⁴⁾, V. C. Myers⁵⁾ empfehlen an Stelle der Fehlingschen Lösung wieder andere Lösungen; die Benedictsche Lösung hat folgende Zusammensetzung:

173 g Natrium- oder Kaliumcitrat, 200 g Natriumcarbonat werden in 700 ccm Wasser unter Erwärmen gelöst; zu der filtrierten Lösung fügt man langsam unter Umrühren eine Lösung von 17,3 g Kupfersulfat in 100 ccm Wasser, kühlt ab und füllt auf 1 L. auf. Die Lösung soll angeblich empfindlicher sein wie die Fehlingsche.

E. Harrison hat die Lösung wieder etwas abgeändert; er läßt 200 g Soda, 200 g Kaliumcitrat, 125 g Kaliumsulfocyanat in warmem Wasser zu 800 ccm lösen; unter Umrühren fügt man eine Lösung von 18,0 g Kupfersulfat in etwa 100 ccm Wasser, dann 5 ccm einer 5%igen Kaliumferrocyanidlösung hinzu und füllt auf 1 L. auf. 25 ccm der Lösung werden durch 0,050 g Glykose reduziert. Zur Bestimmung gibt man 25 ccm der Lösung in eine Porzellanschale, fügt 10–20 g kristall. Natriumcarbonat und eine kleine Menge Bimsstein- oder Talkumpulver hinzu, löst das Natriumcarbonat unter Erhitzen und läßt zu der kochenden Flüssigkeit aus einer Bürette den entsprechend verdünnten Harn zulaufen, bis sich ein kalkweißer Niederschlag zu bilden beginnt, dann langsamer, unter beständigem Kochen, bis ein Tropfen die letzte Spur von blauer Farbe zum Verschwinden bringt und so den Endpunkt anzeigt.

Walbum⁶⁾ hat ein Saccharimeter zur Zuckerbestimmung konstruiert, das mit der Gebrauchsanweisung von der Firma P. Altmann in Berlin NW. zu beziehen ist. Das Prinzip der Bestimmungsmethode beruht gleichfalls auf der Reduktion von Fehlingscher Lösung durch zuckerhaltigen Harn; es wird so lange von dem reinen oder verdünnten Harn zu der im Saccharimeter erhitzten Kupferlösung zugegeben, bis die blaue Färbung eben verschwunden ist. Am Saccharimeter ist eine Skala angebracht, an der man die Zuckerprocente ablesen kann.

¹⁾ Lancet 1905. 29. 811; Münch. med. Wochenschr. 1905. 42. 2040.

²⁾ Chem. Ztg. 1906. 30. 17.

³⁾ Journ. Amer. med. assoc. 1911. 57. 1193.

⁴⁾ The Pharm. Journ. and Pharm. 1911; Pharm. Ztg. 1912. 57. 461.

⁵⁾ Münch. med. Wochenschr. 1912. 59. 1494.

⁶⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1907. 33. Nr. 11; Pharm. Ztg. 1907. 52. 311.

k) Titrieren nach K. Knapp.¹⁾

Prinzip.

Quecksilbercyanid wird in alkalischer Lösung durch Traubenzucker zu metallischem Quecksilber reduziert, während der Zucker selbst zu Glukonsäure und anderen Substanzen wie Zuckersäure oxydiert wird. Die Titration findet wie bei der Fehlingschen statt, nur kann hier ein Indicator angewendet werden.

Der Harn darf ebenfalls nur 0,5—1% Zucker und kein Eiweiß enthalten; durch einen Vorversuch ist zu ermitteln, wie weit der Harn verdünnt werden muß.

Erforderliche Lösung.

1. 10 g reines, im Vakuum über Schwefelsäure getrocknetes Quecksilbercyanid werden in einem Literkolben in Wasser gelöst und mit 100 ccm Natronlauge vom spez. Gewicht 1,145 (12,5% NaOH enthaltend) versetzt; es wird zur Marke aufgefüllt.

Die Lösung läßt sich beliebig lange aufbewahren. Man stellt sie erst mit einer genau 0,5% Traubenzucker enthaltenden Lösung ein; auch kontrolliert man die Lösung hie und da.

2. Alkalische Zinnoxidullösung.

Man löst 50 g kristallisiertes Zinnchlorür in 10% iger Natronlauge und verdünnt mit Wasser zum Liter; scheidet sich ein Niederschlag beim Verdünnen mit Wasser aus, so war zu wenig Natronlauge zugesetzt. Damit die Lösung durch den Luftsauerstoff nicht oxydiert und unbrauchbar wird, gibt man etwas granuliertes Zinn hinzu.

Bei der Prüfung der Endreaktion mit Zinnoxidul entsprechen nach Soxhlets Untersuchungen 100 ccm der Knappschen Lösung 0,200—0,202 g wasserfreiem Traubenzucker, 1 ccm entspricht demnach 0,002 g.

Prüft man bei der Endreaktion auf noch vorhandenes Quecksilbercyanid mit Schwefelammonium nach Knapp oder nach dem Ansäuern mit Schwefelwasserstoff, so ergeben sich andere Werte.

Verdünnt man die Knappsche Flüssigkeit auf das Dreifache und läßt die 0,05—1% Zucker enthaltende Lösung nach und nach zufließen, so zeigt 1 ccm der Knappschen Lösung 0,0025 g Zucker an (Worm-Müller u. Hagen, Otto).

Ausführung.

Man läßt aus einer Bürette (nicht Pipette nehmen!) 20 ccm Knappsche Lösung in eine Porzellanschale oder einen Erlenmeyerkolben aus Jenaer Glas fließen, fügt 80 ccm Wasser — bei einem Zuckergehalte unter 0,5% nur 40—60 ccm Wasser — hinzu und erhitzt zum Sieden. Aus einer Bürette läßt man nach und nach den entsprechend verdünnten oder vorbereiteten Harn zuerst von 1 ccm zu 1 ccm, dann von 0,5 zu 0,5 und schließlich von 0,1 zu 0,1 ccm zu der kochend heißen Lösung zufließen und erhält nach jedem Zusatze $\frac{1}{2}$ —1 Minute im gelinden Sieden. Wenn der Inhalt der Schale oder des Kolbens sich zu klären beginnt und das reduzierte Quecksilber, sowie die Phosphate sich rasch absetzen, dann bringt man auf eine Porzellanplatte oder auf eine auf einer Filtrierpapierunterlage befindliche Glastafel einen Tropfen des geklärten Kolbeninhaltes und dazu einen Tropfen der alkalischen Zinnoxidullösung. Ist noch Quecksilbercyanid in Lösung, so bewirkt der zugesetzte Indikator eine graue Quecksilberabscheidung; man fährt dann noch solange mit dem Zugeben von Harnflüssigkeit fort, bis die Probe negativ ist. Wie bei der Bestimmung nach Fehling, so ist auch hier die erste Bestimmung nur ein Vorversuch; bei den zwei noch weiter anzustellenden Bestimmungen muß die ganze oder nahezu die ganze notwendige Harnmenge auf einmal zugesetzt werden; die zwei Bestimmungen dürfen nur um 0,1 ccm des verdünnten Harnes differieren, in einer Probe soll noch eine Spur Quecksilber gelöst enthalten sein, die andere muß davon frei sein.

Die Berechnung ergibt sich aus dem Gesagten; die Einstellung der Lösung mit der Traubenzuckerlösung nimmt man in der gleichen Weise vor.

l) Titrieren nach R. Sachsse.²⁾

Prinzip.

Das Verfahren beruht auch auf der Reduktion von Quecksilberoxyd.

Erforderliche Lösungen.

1. 18 g Quecksilberjodid und 25 g Jodkalium werden in Wasser gelöst und zu 500 ccm verdünnt.
2. 80 g Kaliumhydroxyd werden in Wasser zu 500 ccm gelöst.
3. Als Indicator dient die alkalische Zinnoxidullösung.

¹⁾ Ann. Chem. Pharm. 1870. 154. 252.

²⁾ Chem. Centralbl. 1877. 471.

Ausführung.

Je 20 ccm der Lösung 1 und 2 werden in einer Porzellanschale gemischt, mit einer bestimmten Menge der vorbereiteten Harnlösung versetzt und nun 2—3 Minuten gekocht. Man bringt einige Tropfen der über dem Niederschlag befindlichen Flüssigkeit auf einem flachen Porzellanschälchen mit einigen Tropfen des Indicators zusammen. Tritt keine Reaktion ein, so ist Zucker im Überschuß oder es entsprechen sich Zucker und Quecksilber; bildet sich ein schwarzer Niederschlag, dann ist noch unzersetzte Quecksilberlösung vorhanden. Man verfährt wie bei der Titration nach Knapp.

Wie bei den anderen titrimetrischen Prüfungsverfahren muß man auch hier mehrere Versuche anstellen, bis man die richtige, den 40 ccm der Sachs'schen Lösung entsprechende Harnmenge gefunden hat.

Nach Soxhlet entspricht 1 ccm Sachsse = 0,00325 g Traubenzucker in 0,5%iger Lösung und 0,0033 in $\frac{1}{2}$ %iger.

Eine indirekte volumetrische Methode hat B. Glassmann¹⁾ empfohlen, deren Prinzip das gleiche ist, wie das nach den Verfahren von Knapp oder Sachsse; nur wird hier der ausgeschiedene Quecksilbergehalt nach der Methode von E. Rupp und Ludwig²⁾ bestimmt.

Beurteilung.

Die Quecksilbermethoden sind nicht empfehlenswert, da der Endpunkt der Titration erstens nie so scharf zu erkennen ist, wie es wünschenswert erscheint und weil weiterhin die Resultate verschieden ausfallen, je nach der Verwendung des den Endpunkt anzeigenden Indicators; auch kommt der Grad der Verdünnung in Betracht. Endlich ist noch die durch Kreatinin bewirkte Quecksilberabscheidung ziemlich beträchtlich, so daß man, um den richtigen Traubenzuckerwert zu erfahren, die Bestimmung im Harn vor und nach der Vergärung vorzunehmen hätte.

m) A. M. Kellas und Frank J. Wethered³⁾ verwenden eine Safraninlösung (Crismers Probe). 2 ccm dieser (1:1000) werden mit 2 ccm Normalnatronlauge und 2 ccm Harn gemischt und gekocht; bei Anwesenheit von Glykose wird die rote Lösung gelb; um den Zucker annähernd zu bestimmen, setzt man während des Kochens langsam Safranin zu, bis die rote Farbe nicht mehr verschwindet. 2 ccm Safraninlösung = etwa 0,1 g Zucker. Stark zuckerhaltiger Harn ist zu verdünnen, Schütteln ist zu vermeiden.

K. A. Hasselbach und J. Linhard⁴⁾ empfehlen zur Bestimmung des Zuckers ebenfalls diese Probe, die sie als schnell auszuführende und zuverlässige bezeichnen. Mit einer Pipette oder aus einer Bürette mißt man gleiche Teile einer Safraninlösung (1:10000) und eine Lösung Kalilauge (1:100) in ein enges Reagenzglas ab; zu dieser Mischung setzt man mit einem Normaltropfenzähler die Zuckerlösung oder den Harn. Nach dem Schütteln bringt man das Glas drei Minuten lang in ein siedendes Wasserbad. Hat man gefunden, daß 1 Safranin (darunter versteht man 1 ccm der Safraninlösung und 1 ccm der Kalilauge) durch 0,25 mg Traubenzucker reduziert wird und erhält man durch 2 Safranin mit 10 Tropfen positive Reaktion, so findet man den Zuckergehalt in der Lösung (Harn) in mg für den ccm zu $x = \frac{20 \cdot 2 \cdot 0,25}{10} = 0,1\%$ Zucker. Die Safraninlösung ist unbegrenzt haltbar und wird auf eine Traubenzuckerlösung von bekanntem Gehalt eingestellt. Man kann sich der Apparatur wie beim Reischauerschen Verfahren bedienen.

Beurteilung der titrimetrischen Methoden.

Die Bestimmungen des Zuckers im Harn fallen bei allen titrimetrischen Proben nicht ganz genau aus, da auch, wie schon des öfteren erwähnt, andere im Harn vorhandene Substanzen störend einwirken, besonders in solchen Harnen, die einerseits konzentrierter, andererseits zuckerarm sind. Diese Substanzen kann man nach dem Vergären des Zuckers für sich bestimmen und in Abzug bringen, was allerdings mit Umständen verbunden ist. Im übrigen werden diese erwähnten Fehlerquellen durch die angegebene Vorbereitung des Harnes schon sehr wesentlich beschränkt und verringert; beim Vorhandensein geringer Zuckermengen im Harn macht sich der Fehler allerdings wieder mehr bemerkbar. Nicht geleugnet kann werden, daß man mit einiger Übung mit den angegebenen Methoden brauchbare Zahlen erhalten kann. Am besten ist es, sich auf eine der Methoden, als welche besonders die Proben nach Pavy (S. 311, nach Bang (S. 309 u. 314) und Bertrand (S. 316) empfohlen werden können, einzuarbeiten; in allen zweifelhaften Fällen wird man noch einen Gärversuch anreihen.

¹⁾ Berl. Bericht. 1906. 39. 503.

²⁾ Berl. Bericht. 1902. 35. 2015.

³⁾ The Lancet. 1906. 20. 27; Münch. med. Wochenschr. 1907. 54. 40.

⁴⁾ Biochem. Zeitschr. 1910. 27. 273.

4. Gewichtsanalytische Bestimmung des Zuckers.

Prinzip.

Das durch die Anwesenheit von Zucker reduzierte, ausgeschiedene und gesammelte Kupferoxydul wird durch Wasserstoff reduziert und das Kupfer gewogen oder noch einfacher, das Oxydul wird durch einfaches Glühen in Oxyd verwandelt, daraus werden Kupfer und Zuckergehalt berechnet.

Bedingungen.

Wie bei der Bestimmung auf titrimetrischem Wege darf der Harn auch hier nicht mehr als 1% Traubenzucker enthalten; weiter empfiehlt es sich, den, wie schon angegeben, entsprechend von anderen störenden und reduzierend wirkenden Stoffen gereinigten Harn in Anwendung zu ziehen.

Ausführung.

In die Porzellanschale mit Stiel (S. 307) gibt man 30 ccm der Fehlingschen Kupferlösung und 30 ccm einer alkalischen Seignettesalzlösung, die für diese Bestimmung so bereitet wird, daß 173 g Seignettesalz und 125 g Kalihydrat in Wasser gelöst und zu 500 ccm aufgefüllt werden, verdünnt mit 60 ccm Wasser und erhitzt zum Kochen. Zu der lebhaft kochenden Flüssigkeit fügt man 25 ccm von dem vorbereiteten, auch wenn nötig, entsprechend verdünnten Harn, der nicht mehr als 1%¹⁾ Zucker enthalten darf, kocht genau zwei Minuten lang und filtriert sofort und möglichst rasch das ausgeschiedene Kupferoxydul ab. Zum Filtrieren verwendet man am besten die von Soxhlet zuerst angegebenen, mit langfaserigem Asbest beschickten Filtrierröhrchen (Asbeströhrchen) (Fig. 62).

Zur Herstellung dieser zieht man ein Verbrennungsrohr von ungefähr 15–20 mm lichter Weite etwa 6–7 cm von einem Ende entfernt auf $\frac{1}{3}$ seiner Stärke gleichmäßig aus; der enge Teil darf 5–6 cm lang sein. In den Hals bringt man als Unterlage für den Asbest ein kleines Platinnetzchen, darauf weichen, vorher mit Natronlauge und Salpetersäure behandelten und wieder getrockneten Asbest, der ziemlich locker einzufüllen ist; man gibt darauf wieder eine kleine Menge des Asbestes, der etwas fester angedrückt wird, verbindet das Röhrchen auf der Saugflasche mit der Saugpumpe und bringt unter ganz schwachem Ansaugen etwas von dem mit dem Asbest angeschüttelten Wasser auf den Pfropfen, hierauf einen weiteren Pfropfen Asbest, dann nochmals von dem in Wasser fein verteilten Asbest und endlich noch einen Pfropfen Asbest, den man mit einer Glasröhre auf allen Seiten andrückt; die Asbestschicht soll etwa $1\frac{1}{2}$ cm betragen und das Wasser beim Ansaugen mit der Wasserluftpumpe mit der erwünschten Schnelligkeit durchlassen. Das so gefüllte Röhrchen wird mehrmals mit heißer Natronlauge behandelt, dann mit heißem Wasser und nachher mit Alkohol und Äther nachgewaschen, getrocknet, nach dem Ausglühen in den Exsiccator gebracht und gewogen. Das Röhrchen ist für den Gebrauch fertig und wird nach jedesmaliger Benützung dadurch wieder gebrauchsfähig gemacht, daß man es mit Salpetersäure, dann mit heißem Wasser, mit Alkohol und mit Äther auswäscht und wieder trocknet. Das ausgeglühte und erkaltete Röhrchen wird vor dem jedesmaligen Gebrauche gewogen.

Beim Filtrieren setzt man mit Hilfe eines Korkes ein Trichterrohr lose auf das Röhrchen und gibt zuerst — man verbindet die angegebene Vorrichtung (Fig. 62) mit der Saugpumpe und saugt schwach — etwas heißes Wasser auf das Asbestfilter und dann die Flüssigkeit mit dem Kupferoxydul; die letzten Reste desselben werden aus der Schale mit einem Federchen und heißem Wasser herausgespült, das Filter mit Inhalt wird mehrere Male mit heißem Wasser, darauf mit Alkohol und mit Äther nachgewaschen und etwa $\frac{1}{4}$ Stunde im Trockenschranke getrocknet. Nach dem Trocknen verbindet man das Asbestfilter durch ein Glasröhrchen und durch einen durchbohrten Stopfen mit einem Wasserstoffentwicklungsapparat, dessen Gas durch Kaliumpermanganatlösung zur Entfernung vom Arsenwasserstoff, hierauf zum Zwecke des Trocknens durch Schwefelsäure geleitet wird, und leitet Wasserstoff durch das schräg nach abwärts geneigte Röhrchen. Nachdem die Luft ausgetrieben ist, erhitzt man den Asbestpfropfen mäßig, worauf die Reduktion des Kupferoxyduls zu metallischem Kupfer stattfindet; sind die auftretenden Wassertropfen durch Erwärmen des Rohres entfernt, läßt man im Wasserstoffstrom



Fig. 62.

¹⁾ Wird beim Kochen der alkalischen Kupferlösung mit den 25 ccm des vorbereiteten Harnes die blaue Lösung vollkommen entfärbt, wird sie gelb, so enthält der Harn zu viel Zucker; die Lösung muß nach dem zwei Minuten dauernden Kochen noch stark blau erscheinen. Man muß daher, wenn die Lösung nur noch schwach blau erscheint oder gar entfärbt ist, den vorbereiteten Harn noch weiter, nötigenfalls 5–10fach, verdünnen und dann den Versuch wiederholen.

erkalten und wägt. Die Zunahme ist die dem Zucker entsprechende Menge Kupfer; aus dem gefundenen Gehalt an diesem findet sich in nachstehender Tabelle (nach F. Allihn) der Gehalt an Zucker.

Allihnsche Tabelle.

Kupfer	Trauben- zucker	Kupfer	Trauben- zucker	Kupfer	Trauben- zucker	Kupfer	Trauben- zucker	Kupfer	Trauben- zucker
mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
10	6,1	102	51,9	194	99,4	286	148,8	378	200,3
12	7,1	104	52,9	196	100,5	288	149,9	380	201,4
14	8,1	106	54,0	198	101,5	290	151,0	382	202,5
16	9,0	108	55,0	200	102,6	292	152,1	384	203,7
18	10,0	110	56,0	202	103,7	294	153,2	386	204,8
20	11,0	112	57,0	204	104,7	296	154,3	388	206,0
22	12,0	114	58,0	206	105,8	298	155,4	390	207,1
24	13,0	116	59,1	208	106,8	300	156,5	392	208,3
26	14,0	118	60,1	210	107,9	302	157,6	394	209,4
28	15,0	120	61,1	212	109,0	304	158,7	396	210,6
30	16,0	122	62,1	214	110,0	306	159,8	398	211,7
32	17,0	124	63,1	216	111,1	308	160,9	400	212,9
34	18,0	126	64,2	218	112,2	310	162,0	402	214,1
36	18,9	128	65,2	220	113,2	312	163,1	404	215,2
38	19,9	130	66,2	222	114,3	314	164,2	406	216,4
40	20,9	132	67,2	224	115,3	316	165,3	408	217,5
42	21,9	134	68,2	226	116,4	318	166,4	410	218,7
44	22,9	136	69,3	228	117,4	320	167,5	412	219,9
46	23,9	138	70,3	230	118,5	322	168,6	414	221,0
48	24,9	140	71,3	232	119,6	324	169,7	416	222,2
50	25,9	142	72,3	234	120,7	326	170,9	418	223,3
52	26,9	144	73,4	236	121,7	328	172,0	420	224,5
54	27,9	146	74,4	238	122,8	330	173,1	422	225,7
56	28,8	148	75,5	240	123,9	332	174,2	424	226,9
58	29,8	150	76,5	242	125,0	334	175,3	426	228,0
60	30,8	152	77,5	244	126,0	336	176,5	428	229,2
62	31,8	154	78,6	246	127,1	338	177,6	430	230,4
64	32,8	156	79,6	248	128,1	340	178,7	432	231,6
66	33,8	158	80,7	250	129,2	342	179,8	434	232,8
68	34,8	160	81,7	252	130,3	344	180,9	436	233,9
70	35,8	162	82,7	254	131,4	346	182,1	438	235,1
72	36,8	164	83,8	256	132,4	348	183,2	440	236,3
74	37,8	166	84,8	258	133,5	350	184,3	442	237,5
76	38,8	168	85,9	260	134,6	352	185,4	444	238,7
78	39,8	170	86,9	262	135,7	354	186,6	446	239,8
80	40,8	172	87,9	264	136,8	356	187,7	448	241,0
82	41,8	174	89,0	266	137,8	358	188,9	450	242,2
84	42,8	176	90,0	268	138,9	360	190,0	452	243,4
86	43,9	178	91,1	270	140,0	362	191,1	454	244,6
88	44,9	180	92,1	272	141,1	364	192,3	456	245,7
90	45,9	182	93,1	274	142,2	366	193,4	458	246,9
92	46,9	184	94,2	276	143,3	368	194,6	460	248,1
94	47,9	186	95,2	278	144,4	370	195,7	462	249,3
96	48,9	188	96,3	280	145,5	372	196,8		
98	49,9	190	97,3	282	146,6	374	198,0		
100	50,9	192	98,4	284	147,7	376	199,1		

Viel einfacher und ebenso genau ist es, das Kupferoxydul unter Durchsaugen von Luft über einer Flamme zu erhitzen, wodurch dieses in Kupferoxyd umgewandelt wird, was nach kurzem Glühen erreicht ist. Nach dem Erkalten des Röhrchens im Exsiccator wägt man das Kupferoxyd. Dieses mit 0,799 multipliziert, gibt die Menge met. Cu an. In der beigegebenen Tabelle nach A. Fernau findet man die dem gef. Kupferoxyd entsprechende Menge Kupfer.

CuO	Cu	CuO	Cu	CuO	Cu	CuO	Cu	CuO	Cu	CuO	Cu
mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
10	8,0	70	55,9	131	104,6	192	153,3	253	202,0	314	250,8
11	8,8	71	56,7	132	105,4	193	154,1	254	202,8	315	251,6
12	9,6	72	57,5	133	106,2	194	154,9	255	203,6	316	252,4
13	10,4	73	58,3	134	107,0	195	155,7	256	204,4	317	253,2
14	11,2	74	59,1	135	107,8	196	156,5	257	205,2	318	254,0
15	12,0	75	59,9	136	108,6	197	157,3	258	206,0	319	254,8
16	12,8	76	60,7	137	109,4	198	158,1	259	206,8	320	255,6
17	13,6	77	61,5	138	110,2	199	158,9	260	207,6	321	256,4
18	14,4	78	62,3	139	111,0	200	159,7	261	208,4	322	257,2
19	15,2	79	63,1	140	111,8	201	160,5	262	209,2	323	258,0
20	16,0	80	63,9	141	112,6	202	161,3	263	210,0	324	258,8
21	16,8	81	64,7	142	113,4	203	162,1	264	210,8	325	259,6
22	17,6	82	65,5	143	114,2	204	162,9	265	211,6	326	260,4
23	18,4	83	66,3	144	115,0	205	163,7	266	212,4	327	261,2
24	19,2	84	67,1	145	115,8	206	164,5	267	213,2	328	262,0
25	20,0	85	67,9	146	116,6	207	165,3	268	214,0	329	262,8
26	20,8	86	68,7	147	117,4	208	166,1	269	214,8	330	263,6
27	21,6	87	69,5	148	118,2	209	166,9	270	215,6	331	264,4
28	22,4	88	70,3	149	119,0	210	167,7	271	216,4	332	265,2
29	23,2	89	71,1	150	119,8	211	168,5	272	217,2	333	266,0
30	24,0	90	71,9	151	120,6	212	169,3	273	218,0	334	266,8
31	24,8	91	72,7	152	121,4	213	170,1	274	218,8	335	267,6
32	25,6	92	73,5	153	122,2	214	170,9	275	219,6	336	268,4
33	26,4	93	74,3	154	123,0	215	171,7	276	220,4	337	269,2
34	27,2	94	75,1	155	123,8	216	172,5	277	221,2	338	270,0
35	28,0	95	75,9	156	124,6	217	173,3	278	222,0	339	270,8
36	28,7	96	76,7	157	125,4	218	174,1	279	222,8	340	271,6
37	29,5	97	77,5	158	126,2	219	174,9	280	223,6	341	272,4
38	30,3	98	78,3	159	127,0	220	175,7	281	224,4	342	273,2
39	31,1	99	79,1	160	127,8	221	176,5	282	225,2	343	274,0
40	31,9	100	79,8	161	128,6	222	177,3	283	226,0	344	274,8
41	32,7	101	80,6	162	129,4	223	178,1	284	226,8	345	275,6
42	33,5	102	81,4	163	130,2	224	178,9	285	227,6	346	276,4
43	34,4	103	82,2	164	131,0	225	179,7	286	228,4	347	277,2
44	35,1	104	83,0	165	131,8	226	180,5	287	229,2	348	278,0
45	35,9	105	83,8	166	132,6	227	181,3	288	230,0	349	278,7
46	36,7	106	84,6	167	133,4	228	182,1	289	230,8	350	279,5
47	37,5	107	85,4	168	134,2	229	182,9	290	231,6	351	280,3
48	38,3	108	86,2	169	134,9	230	183,7	291	232,4	352	281,1
49	39,1	109	87,0	170	135,7	231	184,5	292	233,2	353	281,9
50	39,9	110	87,8	171	136,5	232	185,3	293	234,0	354	282,7
51	40,7	111	88,6	172	137,3	233	186,1	294	234,8	355	283,5
52	41,5	112	89,4	173	138,1	234	186,9	295	235,6	356	284,3
53	42,3	113	90,2	174	138,9	235	187,7	296	236,4	357	285,1
54	43,1	114	91,0	175	139,7	236	188,5	297	237,2	358	285,9
55	43,9	115	91,8	176	140,5	237	189,3	298	238,0	359	286,7
56	44,7	116	92,6	177	141,3	238	190,0	299	238,8	360	287,5
57	45,5	117	93,4	178	142,1	239	190,8	300	239,6	361	288,3
58	46,3	118	94,2	179	142,9	240	191,6	301	240,4	362	289,1
59	47,1	119	95,0	180	143,7	241	192,4	302	241,2	363	289,9
60	47,9	120	95,8	181	144,5	242	193,2	303	242,0	364	290,7
61	48,7	121	96,6	182	145,4	243	194,0	304	242,8	365	291,5
62	49,5	122	97,4	183	146,2	244	194,8	305	243,6	366	292,3
62,6	50,0	123	98,2	184	147,0	245	195,6	306	244,4	367	293,1
63	50,3	124	99,0	185	147,8	246	196,4	307	245,2	368	293,9
64	51,1	125	99,8	186	148,6	247	197,2	308	246,0	369	294,7
65	51,9	126	100,6	187	149,4	248	198,0	309	246,8	370	295,5
66	52,7	127	101,4	188	150,1	249	198,8	310	247,6	371	296,3
67	53,5	128	102,2	189	150,9	250	199,6	311	248,4	372	297,1
68	54,3	129	103,0	190	151,7	251	200,4	312	249,2	373	297,9
69	55,1	130	103,8	191	152,5	252	201,2	313	250,0	374	298,7

CuO	Cu	CuO	Cu	CuO	Cu	CuO	Cu	CuO	Cu	CuO	Cu
mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
375	299,5	410	327,4	445	355,3	479	382,5	513	409,7	547	436,8
376	300,3	411	328,2	446	356,1	480	383,3	514	410,5	548	437,6
377	301,1	412	329,0	447	356,9	481	384,1	515	411,3	549	438,4
378	301,9	413	329,8	448	357,7	482	384,9	516	412,1	550	439,2
379	302,7	414	330,6	449	358,5	483	385,7	517	412,9	551	440,0
380	303,5	415	331,4	450	359,3	484	386,5	518	413,7	552	440,8
381	304,3	416	332,2	451	360,1	485	387,3	519	414,5	553	441,6
382	305,1	417	333,0	452	360,9	486	388,1	520	415,3	554	442,4
383	305,9	418	333,8	453	361,6	487	388,9	521	416,1	555	443,2
384	306,7	419	334,6	454	362,4	488	389,7	522	416,9	556	444,0
385	307,5	420	335,4	455	363,2	489	390,5	523	417,7	557	444,8
386	308,3	421	336,2	456	364,0	490	391,3	524	418,5	558	445,6
387	309,1	422	337,0	457	364,8	491	392,1	525	419,3	559	446,4
388	309,9	423	337,8	458	365,6	492	392,9	526	420,1	560	447,2
389	310,7	424	338,6	459	366,4	493	393,7	527	420,9	561	448,0
390	311,5	425	339,4	460	367,2	494	394,5	528	421,7	562	448,8
391	312,3	426	340,2	461	368,0	495	395,3	529	422,5	563	449,6
392	313,1	427	341,0	462	368,8	496	396,1	530	423,3	564	450,4
393	313,9	428	341,8	463	369,6	497	396,9	531	424,1	565	451,2
394	314,7	429	342,6	464	370,4	498	397,7	532	424,9	566	452,0
395	315,5	430	343,4	465	371,2	499	398,5	533	425,7	567	452,8
396	316,3	431	344,2	466	372,0	500	399,3	534	426,5	568	453,6
397	317,1	432	345,0	467	372,8	501	400,1	535	427,3	569	454,4
398	317,9	433	345,8	468	373,6	502	400,9	536	428,1	570	455,2
399	318,7	434	346,6	469	374,4	503	401,7	537	428,9	571	456,0
400	319,4	435	347,4	470	375,2	504	402,5	538	429,7	572	456,8
401	320,2	436	348,2	471	376,0	505	403,3	539	430,5	573	457,6
402	321,0	437	349,0	472	376,8	506	404,1	540	431,2	574	458,4
403	321,8	438	349,8	473	377,6	507	404,9	541	432,0	575	459,2
404	322,6	439	350,6	474	378,4	508	405,7	542	432,8	576	460,0
405	323,4	440	351,4	475	379,2	509	406,5	543	433,6	577	460,8
406	324,2	441	352,2	476	380,0	510	407,3	544	434,1	578	461,6
407	325,0	442	353,0	477	380,8	511	408,1	545	435,2	579	462,4
408	325,8	443	353,8	478	381,6	512	408,9	546	436,0	580	463,2
409	326,6	444	354,6								

Beurteilung.

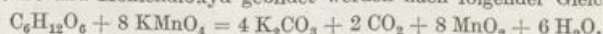
Da die Reduktion der Fehlingschen Lösung durch Traubenzucker nur für ganz bestimmte Konzentrationen der Kupfer- und Zuckerlösungen eine konstante ist und bei Änderung dieser Bedingungen das Reduktionsverhältnis sich ändert, so muß zur Erzielung genauer Resultate unter den angegebenen Bedingungen und Konzentrationen gearbeitet werden.

Man hat die heiße Flüssigkeit schnell zu filtrieren, um einer Auflösung von abgeschiedenem Kupferoxydul durch das bei der Zersetzung von Harnstoff sich bildende Ammoniak vorzubeugen.

Es ist auch empfohlen worden, das in dem Filtrerröhrchen auf Watte statt auf Asbest gesammelte Kupferoxydul direkt zu wägen; dies geht beim Harn nicht an, da in dem Niederschlag Stoffe vorhanden sein können, die das Ergebnis sehr beeinflussen und die deshalb durch Glühen zu entfernen sind.

5. Gasvolumetrische Zuckerbestimmungsmethode.

Die von E. Riegler¹⁾ empfohlene gasometrische Methode der Zuckerbestimmung beruht auf der Tatsache, daß Traubenzucker durch Kaliumpermanganat derart oxydiert wird, daß Kaliumcarbonat und Kohlendioxyd gebildet werden nach folgender Gleichung:



Aus dem gebildeten Kaliumcarbonat, aus der Menge CO_2 , die im Kaliumcarbonat vorhanden ist, kann die entsprechende Zuckermenge berechnet werden.

Ein gasvolumetrisches Verfahren gibt R. Weiß²⁾ an.

¹⁾ Münch. med. Wochenschr. 1904. 51. 210; Apparat mit 2 Tabellen ist zu haben bei Altmann in Berlin und Hegershoff in Leipzig.

²⁾ Münch. med. Wochenschr. 1915. 62. 1046.

Beurteilung.

Auch nach R. Levys Untersuchungen gibt diese Methode keine genauen Zahlen.

6. Zuckerbestimmungen auf colorimetrischem Wege.

E. Rudeck¹⁾ empfiehlt die colorimetrische Harnzuckerbestimmung mit dem Wismut-reagens; zur Abschätzung dient eine Farbenskala mit verschiedenen Farbentönen. K. K. Järvinen²⁾ benützt die Wismutprobe ebenfalls als quantitative Bestimmungsmethode.

E. Benedix und H. Schittenhelm³⁾ nehmen die Traubenzuckerbestimmung in einem „Chromosaccharometer Rapid“ genannten Apparate vor. Die Probe beruht auf der colorimetrischen Zuckerprobe von Moore. Der Apparat enthält ein Standardröhrchen, dessen Farbe der Braunfärbung eines mit gleichen Teilen Natronlauge gekochten 1%igen Zuckerurins entspricht, ein graduirtes Reagenzglas und eine Pipette von 5 ccm nebst Stativ.

Die Braunfärbung mit Lauge nimmt auch A. Angiolani⁴⁾ zur Grundlage einer colorimetrischen Bestimmung; auch ein Verfahren auf dem Prinzip des sog. Reischauerschen beruhend gibt der gleiche Autor an.

Das Glucosimeter von J. Zeehandelaar⁵⁾ beruht auf ähnlichem Prinzip.

Johnson verwendet ein Pikrosaccharimeter. (Die Rotfärbung beim Kochen von Traubenzucker mit Lauge und Pikrinsäure.)

Ähnliche Verfahren veröffentlichten Alma Hiller, Stanley R. Benedict und E. Oster-tag⁶⁾.

W. Autenrieth und G. Müller⁷⁾, W. Autenrieth und A. Funk nehmen die colorimetrische Bestimmung in dem Colorimeter von Autenrieth-Koenigsberger vor und zwar benützen sie die Methode nach Bang; sie titrieren nicht mit Hydroxylamin, sondern bestimmen die Stärke der Kupferlösung nach dem Kochen dieser mit dem Harne mit dem Colorimeter. Das Autenriethsche Colorimeter benützt auch E. Riegler, Neubauer die Entfärbung der Fehlingschen Lösung und das Königsche Diaphanometer.

K. Reicher und E. H. Stein⁸⁾ verwenden Tabletten mit α -Naphthol und entsprechenden Röhrchen, J. B. Summier und V. A. Graham⁹⁾ erwähnen ein colorimetrisches Verfahren mit Dinitrosalicylsäure.

Beurteilung.

Zuckerbestimmungen auf colorimetrischem Wege können als genügend genau nicht bezeichnet werden. Sie können wohl den Arzt über die beiläufige Höhe des Zuckergehaltes orientieren, für genaue Bestimmungen können sie nicht in Betracht kommen (G. Gregor). Diese Anschauung ist jetzt nicht mehr ganz begründet; einzelne Verfahren, so nach Autenrieth, geben, zumal wenn man sich in diese eingearbeitet hat, gut brauchbare Ergebnisse.

Verschiedene andere Methoden (Wägen des Phenylglykosazons, des Benzoesäureesters, Bestimmung mit dem Eintauchrefraktometer usw.) sind vorläufig als durchaus brauchbare und einwandfreie nicht zu betrachten.

7. Eine Bestimmung kleiner und kleinster Zuckerwerte mit Hilfe der Zeitreaktion gibt F. Clausnitzer¹⁰⁾ an.

Das Verfahren ist eine sog Zeitreaktion, bei der aus der Geschwindigkeit des Auftretens der Reaktion — es ist die Worm-Müllersche Probe hiezu gewählt — auf den Zuckergehalt des Harnes geschlossen wird.

Wahl der Methode für die quantitative Bestimmung des Zuckers im Harne.

Das einfachste und das am wenigsten Zeit in Anspruch nehmende Verfahren ist das polarimetrische, das unter Berücksichtigung des bei dieser Bestimmung Gesagten und bei Verwendung

¹⁾ Pharm. Ztg. 1904. 39. 653.

²⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1913. 52. 14.

³⁾ Münch. med. Wochenschr. 1906. 53. 1309; der Apparat mit Gebrauchsanweisung ist von Hausmann in St. Gallen zu beziehen.

⁴⁾ Giorn. Farm. Chim. 1921. 70. 69.

⁵⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1909. 46. 109. 1460; der Apparat wird vom Mediz. Warenhaus in Berlin geliefert.

⁶⁾ Journ. Biol. Chem. 1921. 48. 51.

⁷⁾ Münch. med. Wochenschr. 1911. 58. 899; 1912. 59. 689. Dem Colorimeter sind genaue Anweisungen zur Vornahme der verschiedenen Bestimmungsverfahren beigegeben.

⁸⁾ Biochem. Zeitschr. 1911. 37. 321; Apparatur usw. durch die Firma J. D. Riedel, Berlin, zu beziehen.

⁹⁾ Journ. Biol. Chem. 1921. 48. 51.

¹⁰⁾ Pflügers Archiv ges. Physiolog. 1915. 162. 159.

eines guten Apparates sehr gute, wenn auch nicht immer (gleichzeitige Anwesenheit von Lävulose, β -Oxybuttersäure, Glykuronsäureverbindungen oder diese allein) einwandfreie Resultate gibt; zu aller Vorsicht kann man es noch durch eine andere quantitative Methode, besonders durch die quantitative Gärprobe kontrollieren.

Für die Praxis, für den praktischen Arzt, sind die Verfahren der Bestimmung des Zuckers mit den Gärungssaccharometern und die densimetrische Bestimmung in der von Lohnstein abgeänderten Form geeignete zur Ermittlung des Zuckergehaltes; bequemer ist die erstere Methode, während die letztere wieder den Vorteil bietet, daß mit dem Urometer gleichzeitig beliebig viele Bestimmungen ausgeführt werden können.

Vor allen Methoden hat aber die richtig vorgenommene Gärmethode den Vorteil, daß sie eindeutige und einwandfreie Ergebnisse liefert, wenn man von der sehr selten im Harn vorkommenden Lävulose absieht, die überdies im gegebenen Falle klinisch der Dextrose gleich zu erachten sein wird. Siehe Arbutin.

Mit einzelnen titrimetrischen Bestimmungsmethoden bekommt man, zumal wenn man sich auf die eine oder andere Methode eingearbeitet hat, ebenfalls brauchbare Werte. Hierüber ist das Nähere gesagt worden.

Als zutreffend muß ich das Urteil Rosenbergs¹⁾ anerkennen, daß alle Verfahren bei ihrer Ausführung ganz bestimmte Vorsichtsmaßregeln erfordern, wenn man eine falsche Bewertung der Ergebnisse vermeiden will; manchmal wird erst aus der Kombination verschiedener Methoden eine sichere Diagnose zu stellen sein. Die angeführten Vorsichtsmaßregeln glaube ich wohl sämtlich bei den einzelnen Verfahren erwähnt zu haben; sie finden sich übrigens noch in der S. 352—354 aufgeführten Übersicht angegeben.

Kurzer Gang zur Prüfung des Harnes auf Zucker und Kennzeichnung eines Harnes als diabetischen Harn.

Man wird mit dem übergebenen, nötigenfalls noch vorbereiteten Harn, entweder vom sog. Tagesharn oder von dem nach einer bestimmten Mahlzeit oder Tageszeit entleerten Harn, erst qualitative Reaktionen anstellen, und zwar unter Beobachtung der genau erwähnten Vorsichtsmaßregeln in erster Linie die Probe mit Fehlingscher Lösung (Nr. 2), dann die Wismutprobe (Nr. 3). Fallen diese Proben positiv aus, dann wird man, um keine Zeit zu verlieren, am besten sofort die Gärprobe vornehmen. Weiter wird man den Gehalt an Zucker am einfachsten durch die Gärmethode oder durch Polarisation bestimmen. Siehe Arbutin. Da, wie erwähnt, sowohl Nahrung, wie Tageszeit auf die ausgeschiedene Zuckermenge Einfluß haben, so berücksichtige man bei der Prüfung diese Tatsachen.

Sind die angegebenen qualitativen Proben unsicher oder negativ ausgefallen, oder ist man selbst nicht sicher, ob die mehr oder weniger scharf eingetretenen Reaktionen nicht durch die bei ihrer Besprechung erwähnten fremden Stoffe herbeigeführt worden sein können, dann wird man in erster Linie den auf irgendeine Weise entsprechend gereinigten Harn nochmals prüfen und zur Bestätigung und Sicherung des Ergebnisses die Phenylhydrazin- und Gärprobe, wie angegeben, vornehmen. Der Ausfall der letzten Probe hilft stets über bestehende Zweifel hinweg. Siehe die Übersicht S. 352 bis 354.

Beim Vorhandensein von Zucker hat man noch das spezifische Gewicht des Harnes festzustellen und schließlich auch nicht zu vergessen, auf die Gegenwart der Acetonkörper (Aceton, Acetessigsäure und β -Oxybuttersäure), von Eiweiß und auf die Anwesenheit von Cylindern (sog. Komacylindern) im Harn zu prüfen. Diabetische Harn sind öfters eiweißhaltig. Man prüfe sie auch noch mikroskopisch (Cylinder, Epithelien usw.).

Man vergesse auch in den Fällen, in denen vorher Zucker vorhanden gewesen ist, nicht, auf Aceton und auf Acetessigsäure zu prüfen. Bei manchen Kranken ist der Zucker im Harn verschwunden, Aceton usw. sind aber noch nachweisbar.

Im allenfalls vorhandenen Sedimente von Zuckerharn sind manchmal Hefezellen zu finden.

Wichtig und unerlässlich ist es endlich, die in 12—24 Stunden entleerte Harnmenge zu kennen, um aus dem gefundenen Prozentgehalte des Zuckers die in der Tagesmenge Harn zur Ausscheidung kommende Zuckermenge berechnen zu können; denn 5% Zucker bei 2 Liter täglicher Harnausscheidung geben z. B. 100 g, 2% Zucker aber bei 6 Liter 120 g Zucker. Hat man nicht selbst Gelegenheit, die täglich zur Ausscheidung kommende Harnmenge genau zu messen, so mag man sich die Menge, die man von dem Laien mit einem Schoppenglas — $\frac{1}{4}$ Liter — oder Literglas abmessen läßt, mitteilen lassen. Es kommt in diesen Fällen auf einen Ausfall von 10—20 g, der bei dem vom Laien vorgenommenen primitiveren Abmessen entstehen kann, nicht an.

C. Linksdrehender Zucker.

Es wurden diabetische Harn gefunden, in denen der durch die quantitative Bestimmung ermittelte Zuckergehalt bei weitem mehr betrug, als der durch

¹⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1906. 43. 1108.

Polarisation gefundene; daß in diesen Fällen die Beeinflussung der polarimetrischen Bestimmung nicht durch andere Körper, als die wir die β -Oxybuttersäure, die gepaarten Glykuronsäuren kennen, hervorgerufen wurde, wurde ermittelt; zugleich wurde festgestellt, daß die Linksdrehung durch einen linksdrehenden Zucker, Lävulose, Fruchtzucker, bedingt ist.

Von Leo¹⁾ ist im diabetischen Harne ein linksdrehender Zucker (Laiose genannt) nachgewiesen worden, der mit der Lävulose in seinen Eigenschaften insofern nicht zusammenstimmt, als er mit Hefe nicht gärt und keinen süßen, sondern einen salzartigen Geschmack zeigt. Ob ein besonderer Zucker hier vorliegt, ist aber nicht mit der genügenden Sicherheit bewiesen; jedenfalls ist der im Harne vorkommende linksdrehende Zucker die Lävulose und ist das Vorkommen eines anderen linksdrehenden Zuckers wenig wahrscheinlich (Neumeister).

F. Rosenberger²⁾ glaubt, in dem Urin einer Patientin eine neue Zuckerart und zwar eine Heptose gefunden zu haben. Die Ähnlichkeit dieser Heptose mit der von Leo gefundenen Laiose ist nach Rosenberger eine weitgehende, so daß er zu dem Schlusse kommt, daß wohl auch diese Laiose eine Heptose ist.

Ragnar Berg³⁾ berichtet über einen ähnlichen Zucker, den er für eine Heptose und für identisch mit dem Leoschen Zucker hält. Er nannte den Zucker Arthriston.

Lävulose, d-Fructose, Fruchtzucker $C_6H_{12}O_6$.

Das Vorkommen von Lävulose im Harne wurde früher von zahlreichen Forschern vermutet, es sind viele Fälle beschrieben worden, in denen linksdrehende, gärungsfähige Harne entleert wurden und Reduktion und polarimetrische Untersuchung im Zuckergehalte Unterschiede ergaben, die durch die Annahme des Vorhandenseins von Fruchtzucker neben Dextrose (Glukose) erklärbar waren. Solche Beobachtungen wurden gemacht von Ventzke⁴⁾, von v. Gorup-Besanez, K. Zimmer⁵⁾, F. Czapeck⁶⁾, J. Seegen⁷⁾, Worm-Müller⁸⁾, E. Külz⁹⁾, R. May¹⁰⁾, P. Marie und R. Robinson¹¹⁾, H. Rosin und L. Laband¹²⁾, W. Schlesinger¹³⁾, A. Lion¹⁴⁾, Lepine und Boulud¹⁵⁾, O. Neubauer¹⁶⁾, W. v. Moraczewski¹⁷⁾. — O. Adler¹⁸⁾ hat die an-

¹⁾ Virchows Archiv 1887. 107. 99.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1906. 49. 202.

³⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1919. 45. 435.

⁴⁾ Journ. prakt. Chem. 1842. 1. 25. 80.

⁵⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1876. 2. 329.

⁶⁾ Prag. med. Wochenschr. 1876. 14. 265.

⁷⁾ Centralbl. med. Wissensch. 1884. 753.

⁸⁾ Pflügers Archiv 1885. 35. 98.

⁹⁾ Zeitschr. Biolog. 1890. 27. 228.

¹⁰⁾ Deutsch. Archiv klin. Mediz. 1896. 57. 279.

¹¹⁾ Extr. d. Bullet. et Mémor. d. la Soc. méd. des hôpit. de Paris. 1897. Separatabdr.

¹²⁾ Zeitschr. klin. Mediz. 1902. 47. 183.

¹³⁾ Archiv exp. Patholog. u. Pharmakolog. 1903. 50. 273.

¹⁴⁾ Münch. med. Wochenschr. 1903. 50. 1105.

¹⁵⁾ Rev. d. Medic. 1904. 28. 185.

¹⁶⁾ Münch. med. Wochenschr. 1905. 52. 1525.

¹⁷⁾ Zeitschr. klin. Mediz. 1907. 68. 503.

¹⁸⁾ Archiv Physiol. 1911. 139. 93.

geführten Fälle eingehend besprochen; in einzelnen ist das Vorkommen von Fructose mit Sicherheit nicht erwiesen, bei anderen könnte es sich um gleichzeitige Ausscheidung von Dextrose und Lävulose handeln, andere Fälle sind als chronische Lävulosurie aufzufassen. O. Neubauer hat in einem Falle die Lävulose in Krystallform isoliert, auch hat er einen Fall von diabetischer Lävulosurie (gemischter Melliturie) beobachtet. Durch die Arbeiten von Herzfeld und Winter ist im Harn ebenfalls das Vorkommen von Fruchtzucker nachgewiesen worden. Während einige Autoren, L. Schwarz, F. Ueber, besonders Rosin und Laband, die Anschauung vertraten, daß bei schwerem Diabetes Lävulose häufig ausgeschieden wird oder werden kann, und zwar neben Dextrose in zum Teil reichlicher Menge, steht O. Adler auf Grund der Untersuchungsergebnisse eines großen Materiales von Diabetes-harnen auf dem Standpunkt, daß die Ausscheidung von Lävulose bei Diabetes mellitus zu den Seltenheiten gehört; ihm ist es bei der Untersuchung von mehreren 100 Fällen noch nicht gelungen, in einem Falle Lävulose im Harn eines Diabetikers mit Sicherheit nachzuweisen. Dazu kommt auch noch, daß, wie O. Adler erwähnt, Lävulose bisher noch niemals aus diabetischem Harn in reiner Form isoliert worden ist und daß man daher wohl nicht berechtigt ist, Lävulose mit Sicherheit anzunehmen. Es fehlte bisher auch an genügend genauen Isolierungsmethoden, die Unvollkommenheit der Untersuchungsverfahren ermöglichte nicht die sichere Beweisführung für das Vorhandensein des Fruchtzuckers; es ist daran zu denken, daß die besonders hervortretende Erscheinung bei der Untersuchung des Harnes, die Linksdrehung, auch durch β -Oxybuttersäure, gepaarte Glykuronsäuren, Aminosäuren bedingt gewesen sein konnte. Durch die Darstellung des Methylphenylosazons einerseits, der Lävulosekalkverbindung und der Anreicherung der Lävulose nach dem von O. Adler ausgearbeiteten Benzidinverfahren andererseits kann nun die Lävulose isoliert werden.

Man pflegt drei Formen der Fruchtzuckerausscheidung zu unterscheiden; die chronische, reine Lävulosurie, die alimentäre und die diabetische oder gemischte. O. Adler hat unter 7726 untersuchten Harnen mit 1490 diabetischen in 7 Jahren nur zwei Fälle von chronischer Lävulosurie beobachtet. B. Naunyn¹⁾ erwähnt, daß diese Fälle sehr selten sind; im allgemeinen wird nach Naunyn hier die Lävulose die Rolle der Dextrose übernehmen. Das Auftreten von Acidosis, von β -Oxybuttersäure, Acetessigsäure, Aceton wurde nach O. Adler in den seitherigen Fällen nie beobachtet; im allgemeinen scheint die Lävulosurie vielleicht etwas harmloser zu sein.

Nach den Beobachtungen von H. Strauss²⁾, H. Strauss und H. Sachs³⁾ läßt sich in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle nach Lävulosezufuhr (100 g in den nüchternen Magen) alimentäre Lävulosurie herbeiführen, welche

¹⁾ Der Diabetes mellitus. Wien. 1898.

²⁾ Deutsch. med. Ztg. 1897. 43; Deutsch. med. Wochenschr. 1901. 27. Nr. 44 u. 45.

³⁾ Verh. des Kongresses f. inner. Mediz. 1904. 431.

Tatsache anderweitig bestätigt worden ist (B. Chajes)¹⁾, so daß man auf das Bestehen einer Lebererkrankung schließen zu können glaubt, weil bei einer erkrankten Leber die Fähigkeit, Fruchtzucker zu verbrennen, verringert ist.

Über die diabetische Lävulosurie wurde schon im vorhergehenden kurze Mitteilung gemacht; die Annahme, daß im Harn der Diabetiker, besonders beim schweren Diabetes, Lävulose nicht selten ausgeschieden wurde, wurde gestützt durch die Ergebnisse der Bestimmungen zwischen Titration und Polarisation oder zwischen Polarisation und Gärung und durch den positiven Ausfall der Probe nach Seliwanoff. Selbstverständlich ist, daß linksdrehende, nicht gärfähige Substanzen (β -Oxybuttersäure, Glykuronsäure) berücksichtigt werden, die ja nicht unschwer durch eine Polarisation des vergorenen Harnes entdeckt werden können. Als einwandfrei kann nach O. Adler der Nachweis der Lävulose im diabetischen Harn erbracht angesehen werden, wenn es gelingt, diese nach einem der später angegebenen Verfahren zu isolieren. Über die Seliwanoffsche Probe siehe diese.

Nach H. Königsfeld²⁾ hätte man beim Diabetes auch eine urogene Lävulosurie zu unterscheiden; durch die meist infolge reichlichen Genusses von Alkalien entstehende alkalische Reaktion des Harnes soll ein Teil der ausgeschiedenen Dextrose in Lävulose umgewandelt werden. Wahrscheinlich gibt es auch eine gastroenterogene Lävulosurie, bei der die Assimilationsfähigkeit des Organismus für Lävulose herabgesetzt wird. Weiter soll der Gebrauch alkalischer Wässer die Ausscheidung von Lävulose beim Diabetiker veranlassen können, so daß Königsfeld darauf aufmerksam macht, hier nicht allein die polarimetrische Bestimmung, sondern auch die quantitative Gärungsbestimmung nach Lohnstein vorzunehmen, um Täuschungen durch vermeintliche Verminderung der Traubenzuckerausscheidung auszuschließen. O. Adler kann auf Grund zahlreicher Versuche diese Ansicht nicht bestätigen. Andererseits wird von verschiedenen Forschern [J. Baer³⁾, H. Malfatti⁴⁾, J. Ritzema⁵⁾] darauf hingewiesen, daß Lävulosurie im Harn sekundär aus Dextrose beim Einflusse alkalischer Reaktion entstehen kann (siehe bei Probe nach Seliwanoff).

Die im Harn vorgefundene Menge an Fruchtzucker überstieg selten 2%.

Allgemeines über Lävulose enthaltende Harn.

Bei der Ausscheidung von Lävulose (Fructose) allein wird der Harn eine Linksdrehung zeigen, da die Lävulose ein spez. Drehungsvermögen von -92 — $-92,5^\circ$ besitzt. Eine Linksdrehung bedingt allerdings auch die Anwesenheit der β -Oxybuttersäure und der gepaarten Glykuronsäuren; das Vorkommen der letzteren kann besonders nach dem Einnehmen verschiedener Arzneimittel veranlaßt werden, worauf man zu achten hat. So wurde durch das Einnehmen von Antipyrin (Bildung von Oxyantipyringlykuronsäure), durch Validol (Menthol mit Baldriansäure) eine durch Traubenzuckergehalt des Harnes bedingte Rechtsdrehung wesentlich beeinflußt. Bei Anwesenheit von Fructose zeigt der Harn natürlich auch Reduktionsvermögen.

¹⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1904. 30. 696. (Hier gesamte Literatur.)

²⁾ Zeitschr. klin. Mediz. 1907. 69. 291.

³⁾ Dissertat. Straßburg. 1899.

⁴⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1909. 58. 544.

⁵⁾ Dissertat. Groningen. 1905.

Durch eine Vergärung wird leicht ermittelt werden können, ob Lävulose vorhanden ist oder ob die genannten anderen Stoffe vorliegen; erstens verläuft bei Lävuloseanwesenheit die Gärung positiv (CO_2 -Entwicklung) und dann verschwindet die Linksdrehung im vergorenen Harne. Bleibt die letztere bestehen, so ist auf die beiden angegebenen anderen Stoffe zu prüfen.

Bei einer vorhandenen Linksdrehung des Harnes wird man an die Vornahme der Seliwanoffschen Reaktion zu denken haben; ein Eintreten dieser kann die Lävuloseanwesenheit beweisen; im vergorenen Harne tritt die Reaktion nicht mehr auf. Man beobachte aber genau die bei der Ausführung der Probe angeführten Vorsichtsmaßregeln.

Nun kann es vorkommen (was nach obigen Mitteilungen jedoch selten sein soll), daß eine kombinierte Ausscheidung von Dextrose und von Lävulose vorliegen und daß der Harn infolgedessen ein ganz verschiedenes polarimetrisches Verhalten zeigen kann und wird. Je nach dem Verhältnis, in dem die beiden Zucker im Harne enthalten sind, wird das Ergebnis der polarimetrischen Untersuchung ausfallen und eine Berechnung des Zuckergehaltes aus dem Polarisationswerte allein würde zu falschen Resultaten führen, könnte es ja sogar vorkommen, und dieser Fall wurde von Lion beobachtet, daß ein Harn trotz starker Reduktion und Gärung ein optisch inaktives Verhalten zeigen könnte; dies wird eintreten bei einem Mischungsverhältnisse von etwa 1 Teil Dextrose und 1,8 Teilen Lävulose, die Rechtsdrehung der Dextrose wird durch die Linksdrehung der Lävulose gerade aufgehoben.

Man wird deshalb, wenn die Reduktionsproben positiv ausfallen, wenn die Seliwanoffsche Probe eintritt, den Harn quantitativ vergären oder noch eine genaue Zuckerbestimmung auf chemischem Wege ausführen; das Ergebnis der polarimetrischen Prüfung stimmt, wenn beide Zucker vorhanden sind, mit dem bei der Gärung und bei der quantitativen Bestimmung erhaltenen Befunde nicht überein; durch die beiden letzten Bestimmungen wird mehr Zucker erhalten als bei der polarimetrischen. Ein Harn z. B., der außer 2% Glykose 1% Lävulose enthält, würde nach der Titrimethode (Fehling) 2,94% Glykose, nach der Polarisation nur 0,44% enthalten. Zeigt der Gärückstand weder die Seliwanoffsche Probe, noch eine Linksdrehung, dann kann außer Dextrose Lävulose im Harne vorhanden gewesen sein. Zur weiteren Kennzeichnung wären noch das Neubergsche Verfahren, die Darstellung der Lävulose-Kalkverbindung und die Anreicherung der Lävulose nach dem Benzidinverfahren von O. Adler in Anwendung zu ziehen, denn der gebräuchliche Schluß auf das Vorhandensein von Lävulose aus Differenzbestimmungen zwischen Titration und Gärung oder Polarisation kann trügerisch sein, was von O. Adler, Borchardt hervorgehoben wird; auch bei der Seliwanoffschen Probe können Täuschungen vorkommen (s. S. 336).

Hinweisen möchte ich endlich noch darauf, daß die Prüfungen auf das Vorhandensein von Lävulose nur im frischen, sauren, nicht alkalischen Harne vorgenommen werden müssen, da aus Glykose durch alkalische Reaktion des Harnes (durch die Einwirkung von Hydroxylionen) Fructose gebildet und die Resorcinprobe positiv werden kann.

Darstellung. Isolierung. Nachweis.

1. Darstellung als Methylphenyllävuloseosazon.

Nach C. Neuberg¹⁾ besitzt man in den sekundären asymmetrischen Hydrazinen, besonders im Methylphenylhydrazin $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{N}=\text{NH}_2$, ein ausgezeichnetes Reagens zur Erkennung und Isolierung der Ketosen; diese geben mit dieser Hydrazinbase ein Methylphenylosazon, während die Aldosen nicht dazu befähigt sind, sie liefern farblose Hydrazone, die leicht von dem intensiv gefärbten Osazon getrennt werden können.

Zur Gewinnung des Methylphenyllävuloseosazons wird nach C. Neuberg und H. Strauss²⁾ der Harn zuerst nach Zusatz einiger Tropfen Essigsäure zur Entfernung von allenfalls vorhandenem Eiweiß aufgeköcht, das Filtrat im Vakuum bei etwa 40° zum dünnen Sirup unter Zusatz einiger Tropfen Essigsäure konzentriert und der Sirup zwei- bis dreimal mit absolutem Alkohol ausgeköcht oder mit halb soviel 98%igem Alkohol versetzt, als die angewandte Harnmenge betrug und 5 Minuten auf dem Wasserbade extrahiert; diese Extraktion wird noch 1—2mal wiederholt. Die filtrierten alkoholischen Auszüge werden eingedampft, der Rückstand wird mit Wasser zu einem bestimmten Volumen gelöst, die Lösung filtriert, mit Knochenkohle entfärbt

¹⁾ Berl. Bericht. 1902. 35. 959.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1902. 36. 231.

und in einem abgemessenen Teile der Gehalt an reduzierenden Substanzen titrimetrisch bestimmt. (Das Reduktionsvermögen des Traubenzuckers für Kupferoxyd verhält sich zu dem der Lävulose wie 100:92,08; nach Sachsse werden 16,67 Traubenzucker vertreten durch 10 Gewichtsteile Lävulose, gegen die Knappsche Lösung verhält sich der Fruchtzucker nahezu gleich dem Traubenzucker.) Dann werden zu der auf etwa 30 ccm eingedampften alkoholischen Zuckerlösung auf 1 Mol. Zucker 3 Mol. Methylphenylhydrazin zugesetzt, worauf man einige Stunden in der Kälte stehen läßt und einen gebildeten Niederschlag abfiltriert. Das Filtrat oder die ursprüngliche Lösung werden mit einer dem angewandten Phenylhydrazin gleichen Gewichtsmenge 50%iger Essigsäure versetzt; man gibt noch so viel Alkohol zu, daß eine klare Lösung entsteht, die man auf dem kochenden Wasserbade 3—5 Minuten oder besser 24 Stunden im Brutschranke auf 40° erwärmt. Das Methylphenylosazon scheidet sich bei größeren Mengen Fruchtzucker krystallinisch sofort oder nach Zusatz einiger Tropfen Wasser aus; bei geringen Mengen erhält man meist das Osazon als Öl, das beim Reiben oder bei sehr starker Abkühlung (feste Kohlensäure und Äther) erstarrt. Man krystallisiert das Rohprodukt aus Alkohol unter Anwendung von Kältemischung um, löst die Krystalle in heißem Wasser unter Zusatz von etwas Pyridin, kocht mit wenig Tierkohle und engt das Filtrat ein. Das Osazon scheidet sich in gelbroten Nadelchen aus, die aus 10%igem Alkohol umkrystallisiert werden; die Krystalle schmelzen bei 158—160°. Löslich sind sie in heißem Alkohol, in Aceton, Essigsäure, Chloroform, sehr leicht löslich sind sie in Pyridin. Die Substanz ist optisch aktiv; im Pyridin-Alkoholgemisch (4,0 g Pyridin, 6,0 g absol. Alkohol) zeigen 0,2 g Substanz eine Rechtsdrehung von +1°40'.

2. Die Darstellung der Lävulose-Kalkverbindung.

Eine solche Verbindung ist zuerst von Dubrunfaut hergestellt worden. Peligot, Ost haben die Methode der Darstellung ausgearbeitet und sie verbessert.

Nach O. Adler¹⁾ wird der Harn mit konzentriertem neutralem Bleiacetat unter Vermeidung eines größeren Überschusses gefällt, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff entbleit und das Schwefelblei abfiltriert. Die Lösung wird im hohen Vakuum konzentriert, wobei durch eine in die Lösung eintauchende Kapillare Wasserstoff, Blase für Blase, zugeführt wird. Wenn leichtflüssige Sirupkonsistenz erreicht ist, wird mehrfach mit Alkohol in der Wärme ausgezogen, die alkoholische Lösung nach völligem Erkalten und mehrstündigem Stehen filtriert, der Alkohol im Vakuum verjagt und der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen. Die so erhaltene Lösung wird sodann dem Kalkverfahren unterzogen; in die gekühlte Lösung wird frisch bereitetes Kalkhydrat unter Rühren eingetragen, es wird rasch in der Kälte filtriert und das Filtrat in eine Kältemischung eingestellt. Zur raschen

¹⁾ Archiv Physiol. 1911. 139. 116; Berl. Bericht. 1909. 42. 1742.

Kühlung bewährt sich ein Gemisch von Äther und fester Kohlensäure. Nach kurzer Zeit tritt Krystallisation der Lävulose-Kalkverbindung ein, die abgesaugt, mit Eiswasser gewaschen und mit Oxalsäure zerlegt wird.

Auch aus Gemischen mit Dextrose kann die Lävulose isoliert werden; die Ausbeute beträgt im Harn aber kaum mehr als etwa 20% des zugesetzten Zuckers.

3. Das Benzidinverfahren nach O. Adler.¹⁾

Prinzip.

Bei dreistündigem Kochen einer alkoholischen Lösung von Benzidin mit Glykose entsteht eine krystallisierende Verbindung, Diglykosebenzidid; auch Arabinose und Maltose geben ähnliche Verbindungen, nicht aber Lävulose; in Verbindung mit Glykose kann daher diese in der Benzidinverbindung abgeschieden und angereichert werden.

Der Harn wird gerade so vorbereitet, wie unter 1 angegeben. Der nach dem Entfernen des Alkohols im Vakuum erhaltene Rückstand wird statt in wenig Wasser mit absolutem Alkohol aufgenommen und die alkoholische Lösung des Gemisches von Traubenzucker und Fruchtzucker mit Benzidin behandelt; man erhitzt 3 Stunden am Rückflußkühler (auf 3,8 g Glykose 1,8 g Benzidin in 200 cem 96%igem Alkohol); es wird dann eingengt, wodurch der größte Teil der vorhandenen Glykose als Diglykosebenzidid (Schmelzpunkt 127°) ausgefällt wird. Von dieser Ausscheidung wird scharf abgesaugt und im Filtrate das im Überschusse vorhandene Benzidin durch Schwefelsäure quantitativ gefällt. Geringe Mengen etwa noch gelöster Glykosebenzidinverbindung werden hiebei in ihre Komponenten gespalten und das fre werdende Benzidin gleichzeitig mit gefällt; von dem hiebei entstehenden schwerlöslichen Benzidinsulfat wird abfiltriert; das Filtrat bildet nunmehr eine linksdrehende Lösung von Fructose, die nur eine geringe Beimengung von Dextrose enthält.

Qualitativer Nachweis.

1. Die sogenannte Seliwanoffsche²⁾ Probe.

Prinzip.

Die zuerst von Ihl und A. Pechmann³⁾ beschriebene Probe beruht darauf, daß alle Ketosen, alle Fruchtzucker enthaltenden Di- und Polysaccharide, beim Erwärmen von Fruchtzucker mit verdünnter Salzsäure und etwas Resorcin eine Rotfärbung geben unter Abscheiden eines in Alkohol mit roter Farbe löslichen Niederschlages. Aldosen und Aldopentosen geben die Reaktion nicht, d. h. wenn nicht zu stark mit der Salzsäure erhitzt wird; bei langem und starkem Erhitzen geben sie, besonders Mannose und Maltose, auch die genannte Färbung.

Die Reaktion beruht nach den Versuchen von A. van Ekenstein und J. J. Blanksma⁴⁾ auf der Bildung von Oxymethylfurfurol, das aus den Aldosen beim Behandeln mit Säuren nur in geringer Menge (etwa zu 1%) entsteht, während aus Lävulose 20% davon sich bilden. Hiebei spielen zwei Punkte eine besondere Rolle, die Konzentration der Säure und die Kochdauer. Aus dem Gesagten wird ersichtlich, daß die Reaktion vorsichtig vorzunehmen und ebenso zu beurteilen ist. Auf weitere störende andere Stoffe wird bei der Beurteilung aufmerksam gemacht.

Ausführung.

Nach Th. Seliwanoff werden 10 cem Harn mit etwas Resorcin und 2 cem mäßig verdünnter Salzsäure schnell erwärmt; die Flüssigkeit färbt sich bei Anwesenheit von Fructose rot. Ein sich ab-

¹⁾ Archiv Physiol. 1911. 139. 116; Berl. Bericht. 1909. 42. 1742.

²⁾ Berl. Bericht. 1887. 20. 181.

³⁾ Chem. Centralbl. 1885. III. F. 16. 761.

⁴⁾ Berl. Bericht. 1910. 43. 2355.

scheidender dunkler Niederschlag löst sich in Alkohol mit prächtig roter Farbe.

Nach K. Miura¹⁾ erhält man die Reaktion sehr schön, wenn man eine Mischung von einem Vol. konz. Salzsäure und zwei Vol. Wasser mit wenig Resorcin und einer Spur Fruchtzucker erwärmt.

A. Tollens²⁾ empfiehlt die Probe in folgender Ausführung.

Man gibt 1—2 ccm von einer Mischung von 0,5 g Resorcin, 30 ccm Wasser und 30 ccm Salzsäure (1,19 spez. Gewicht) zu der zu prüfenden Lösung, die man vorher mit dem gleichen Volumen rauchender Salzsäure versetzt hat, und erhitzt sehr langsam über kleiner Flamme; bei Gegenwart von Lävulose tritt bald eine feuerrote Färbung ein.

Am zweckmäßigsten wird man die Reaktion nach dem von O. Adler³⁾ angegebenen Verfahren vornehmen.

R. und O. Adler haben gefunden, daß die beim Stehen des Harnes durch Reduktion aus den Nitraten sich bildende salpetrige Säure das Vorhandensein von Lävulose vortäuschen kann; die Genannten erhielten in einer beträchtlichen Anzahl von Harnen positive Reaktionen, während der weitere Gang der Untersuchung keine sicheren Anhaltspunkte für das Vorhandensein von Lävulose bot; die Ursache war die Anwesenheit von salpetriger Säure. Frische Harnen zeigten die Reaktion nicht, nach längerem Stehen bei Zimmertemperatur gaben aber die gleichen Harnen eine deutliche Nitrit- und Resorcinreaktion. Bei der Vergärung verschwindet die salpetrige Säure; man muß daher mit der Beurteilung vorsichtig sein, ein positives Eintreten der Reaktion im Harn direkt und ein negatives im vergorenen Harn darf man nur dann als für Fruchtzucker beweisend ansehen, wenn keine Nitrite vorhanden oder wenn diese entfernt waren.

Zwei Teile Harn werden mit einem Teile 36%iger Salzsäure versetzt. Hierauf wird ohne Zusatz von Resorcin zum Sieden erhitzt und die Lösung durch 20 Sekunden im Kochen erhalten. Von der Flüssigkeit wird etwa die Hälfte gesondert in ein Reagenzglas gegossen; dieser Teil dient als Kontrolle über die durch Salzsäure allein entstandene Färbung. Zum anderen Teile wird eine kleine Messerspitze Resorcin zugefügt; nunmehr werden beide gesonderten Teile gleichzeitig nochmals für einen Moment aufgekocht. Die mit Resorcin versetzte Lösung nimmt bei Gegenwart von Lävulose eine charakteristische Rotfärbung an mit nachfolgender Bildung eines Niederschlages, der in Alkohol leicht löslich sein muß. Der Zusatz von Resorcin erst nach dem Kochen hat den Zweck, die salpetrige Säure vor dem Anstellen der Probe zu entfernen; die Verwendung einer Kontrolle in der angegebenen Weise läßt eine Beurteilung über die durch Salzsäure allein auftretende Rotfärbung zu; der bei Vorhandensein auch geringer Lävulosemengen auftretende charakteristische Farbenton läßt sich bei einiger Übung leicht erkennen.

H. Rosin⁴⁾ läßt gleiche Teile Harn und Salzsäure mit einigen Körnchen Resorcin kochen; bei 90° tritt bereits rote Färbung ein. Nach dem Erkalten neutralisiert man mit

¹⁾ Zeitschr. Biolog. 1895. 322.

²⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1901. 40. 559.

³⁾ l. c.

⁴⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1903. 38. 555; 1904. 41. 549

Soda und schüttelt mit Amylalkohol aus; dieser färbt sich rot mit grüner Fluoreszenz und zeigt im Spektralapparate Doppelstreifen in Blaugrün und Grün.

Eine von E. Pinoff¹⁾ angegebene Abänderung hat sich nach N. Schoorl und P. C. J. van Kalmthout²⁾ nicht bewährt.

L. Borchardt³⁾ gibt ein Verfahren an, das einwandfreie Ergebnisse liefern soll. Einige Kubikzentimeter Harn werden in einem Reagenzglas mit der gleichen Menge 25%iger Salzsäure und mit einigen Körnchen Resorcin einmal aufgekocht. (Nach anderer Mitteilung wird 12%ige Salzsäure verwendet und genau 20 Sekunden erhitzt.) Beim Eintreten der Rotfärbung kühlt man mit Wasser, macht mit Soda alkalisch und schüttelt mit Essigäther aus, der sich bei Gegenwart von Lävulose gelb färbt. Nitrite und Indican können die gleiche Reaktion geben; erstere können durch Kochen des Harnes mit Essigsäure, letzteres kann durch Obermeyersches Reagens und Ausschütteln mit Chloroform entfernt werden. Santonin-, rheumhaltige Harn, auch Urorosein geben ähnliche Reaktionen.

Beurteilung.

In erster Linie ist Hauptbedingung⁴⁾ für ein einwandfreies Ergebnis, daß nur frischer, eiweißreicher Harn verwendet wird, vor allem kein alkalisch reagierender, da, wie wir gesehen haben, einerseits entstandene Nitrite die Reaktion vortäuschen können, andererseits durch alkalische Reaktion aus Glykose Spuren von Fructose gebildet worden sein können. Jedenfalls ist Vorsicht bei der Bewertung der Probe geboten; man nehme keine zu konzentrierte Säure und koche nur kurz; wenn die Reaktion nach kurzer Erwärmung (einmaliges kurzes Aufkochen) eintritt, dann kann auf die Anwesenheit von Lävulose geschlossen werden.

Zu den einzelnen Abänderungen der Probe ist noch zu bemerken, daß nach W. Voit⁴⁾ die Probe nach Rosin nicht immer eindeutig und einwandfrei ist. H. Malfatti⁵⁾ gibt an, daß sowohl durch starke Säuren, wie durch schwache Alkalien, Carbonate, Acetate, Phosphate usw., also unter Verhältnissen, wie sie im Harn gegeben sind, eine geringe Umwandlung von Dextrose in Lävulose eintreten kann und eintritt. Um die störenden Farbstoffe zu entfernen, säuert man den Harn mit einigen Tropfen konz. Salzsäure an und setzt tropfenweise starke Permanganatlösung hinzu, bis die auftretende Rötung nur mehr sehr langsam verschwindet. Ein so vorbehandelter Harn darf nach Borchardts Methode mit Essigäther keinerlei Rotfärbung zeigen, außerdem muß noch Permanganatlösung zugesetzt werden. Gegenüber positiven Lävulosereaktionen im Harn ist die größte Vorsicht und Zurückhaltung am Platze. Nach Malfatti soll die Säurekonzentration im Gemisch möglichst nur 12,5% Salzsäure betragen, erhitzt soll im Wasserbade 1 Minute lang werden.

Nach W. Voit⁶⁾ sind Harn, die über 2,5% Traubenzucker enthalten, entsprechend zu verdünnen; der Ausfall der Probe nach Borchardt ist nur als positiv anzusehen, wenn eine ziemlich starke Gelbfärbung des Essigäthers aufgetreten ist; auch mit normalem Harn fällt diese Probe zuweilen positiv aus, ebenso zeigten Harn von Diabetikern die Reaktion, so daß auch sie nicht zum Gegenbeweis einer diabetischen Lävulosurie angeführt werden darf. Nach Voit ist die Probe nicht brauchbar.

Nach A. Jolles⁷⁾ soll auch in hochkonzentrierten urobilinreichen und zuckerfreien Harnen eine Rotfärbung eintreten.

2. Kocht man Lävulose mit konz. alkoholischer Lösung von Diphenylamin und etwas Salzsäure, so färbt sich die Flüssigkeit gelbgrün, dann dunkelblau (Ihl und Pechmann).

Nach A. Jolles⁸⁾ werden Harn, die keine Dextrose oder solche bis zu 2,5% enthalten, zehnfach verdünnt. Von dem verdünnten Harn versetzt man 1 ccm mit 8–10 Tropfen einer 20%igen alkoholischen Diphenylaminlösung und 1 ccm konz. Salzsäure und erhält etwa eine Minute im Kochen. Bei Anwesenheit von 0,05% Lävulose tritt nach etwa 40 Sekunden eine blaue Färbung auf. Harn mit höherem Zuckergehalte müssen 20-fach verdünnt werden.

Beurteilung.

Dextrose soll in der angegebenen Zeit keine Färbung geben.

3. J. Bang⁹⁾ verwendet die zum Nachweis der Gallensäuren empfohlene Reaktion umgekehrt zum Nachweis der Fructose.

¹⁾ Berl. Bericht. 1906. 38. 3314.

²⁾ Ebenda. 1906. 39. 284.

³⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1908. 55. 241; 1909. 60. 411.

⁴⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1909. 58. 122; 61. 92.

⁵⁾ Ebenda. 1909. 58. 544.

⁶⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1909. 58. 122; 1909. 61. 92.

⁷⁾ Archiv Pharm. 1906. 244. 542.

⁸⁾ Ebenda. 1906. 244. 542; Zeitschr. angew. Chem. 1912. 25. 2015.

⁹⁾ a. a. O.

In einem Proberöhrchen setzt man 1—2 Tropfen Rindergalle (die nach Zusatz von Toluol lange haltbar ist) oder ein Körnchen krystallisierter Rindergalle zu 1—2 Tropfen Harn (höchstens 0,2—0,3 ccm) und etwa 3 ccm rauchender Salzsäure und kocht $\frac{1}{2}$ —1 Minute über freier Flamme. Ist Fruktose anwesend, so beobachtet man eine schön violette Färbung, die beim Stehen stärker wird und nach dem Abkühlen sich unverändert hält. Spektroskopisch sieht man das Spektrum wie bei der Pettenkoferschen Reaktion.

Die Probe soll empfindlich sein; mit Rohrzucker tritt sie auch ein, ebenso erhält man mit Traubenzucker beim längeren Kochen eine schwache violette Färbung. Es ist selbstverständlich, daß hier, wie bei der Probe nach Seliwanoff, dieselben Bedenken und die gleiche Vorsicht gerechtfertigt erscheinen.

Zur quantitativen Bestimmung des Fruchtzuckers können, wenn nur dieser vorhanden ist, sowohl die Polarisation, die Gärung und irgendeine der titrimetrischen Methoden in Anwendung kommen. Anders liegt die Sache bei kombinierter Ausscheidung von Dextrose und Lävulose. Geringe Mengen letzterer können schon qualitativ nicht ohne erhebliche Schwierigkeiten mit Sicherheit nachgewiesen werden; der Nachweis der vorhandenen Menge ist, wenn es sich um diese geringen Mengen handelt, unmöglich. Bei dem Vorhandensein größerer Mengen Fructose neben Glykose kann erstere wohl durch den Vergleich der bei der titrimetrischen Methode, der Gärprobe und der Polarisation erhaltenen Ergebnisse berechnet und bestimmt werden. Nach meinen Erfahrungen ist eine genaue Trennung der beiden Zuckerarten im Harn zurzeit mit Sicherheit nicht möglich.

Th. Lohnstein¹⁾ gibt über die in Frage stehende Ermittlung Folgendes an. Wenn die Polarisationsbestimmung gegenüber der Bestimmung durch Gärung einen erheblich verschiedenen, und zwar kleineren Wert ergibt, so ist dies nur so zu erklären, daß der untersuchte Urin gleichzeitig Dextrose und Lävulose enthält. Mit Hilfe der Drehungskonstanten der Dextrose (52,5) und der Lävulose (92,5) kann man aus der polarimetrischen Ablesung P und der Saccharometerzahl S die Prozentzahlen x der Dextrose und y der Lävulose berechnen.

Gesetzt: Die polarimetrische Prüfung P habe 1%, die durch Gärung vorgenommene (saccharometrische) aber 7% Zuckergehalt ergeben.

Da $92,5 : 52,5 = 37 : 21$, so hat man folgende beide Gleichungen ersten Grades:

$$x = \frac{37}{21} y = P, \quad x + y = S,$$

woraus in bekannter Weise folgt:

$$y = \frac{21}{58} (S - P) \quad \text{und} \quad x = \frac{37}{58} S + \frac{21}{58} P.$$

Rechnerisch ersetzt man die zweite Gleichung praktischer durch $x = S - y$ und berechnet zuerst y nach der Formel.

Im vorliegenden Falle ergibt sich, wenn zunächst die Saccharometerzahl 7 nach 1 in

$$\frac{7 \times 10}{13} = 5,4 \text{ verbessert wird:}$$

$$y = \frac{21}{58} (5,4 - 1) = \frac{21}{58} \cdot 4,4 = 1,6,$$

und daraus:

$$x = 5,4 - 1,6 = 3,8.$$

Der untersuchte Urin enthielt sonach 3,8% Dextrose und 1,6% Lävulose.

Ich mache aber darauf aufmerksam, daß der Gärückstand ebenfalls polarimetrisch zu prüfen ist, um den Nachweis zu haben, daß gepaarte Glykuronsäuren oder aber linksdrehende Stoffe fehlen.

Eigenschaften.

Die Lävulose krystallisiert nur aus reinen Lösungen in seidenglänzenden Nadeln oder kugeligen Aggregaten; außerdem bleibt sie amorph; Schmelz-

¹⁾ Pharm. Ztg. 1913. 58. 220.

punkt nicht scharf, zwischen 95 und 105°; in Wasser, Alkohol ist die Lävulose leicht löslich; reichlich löst sie sich in heißem absolutem Alkohol und in heißem Methylalkohol; in Ätheralkohol ist sie viel leichter löslich, als alle anderen Zuckerarten. Sie dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach links; die Drehung ist aber keine konstante und besonders von Konzentration, Temperatur und anderen Umständen abhängig; bei 20° dreht z. B. eine 10%ige Lösung $[\alpha]_D = -90,716$, eine 20%ige $-93,299$, nach Parcus und Tollens $-92,25^\circ$. 1 g Lävulose in 100 ccm Wasser gelöst, zeigt im 2 dm-Rohr eine Drehung von $-1,84^\circ$ oder 1° Drehung im 2 dm-Rohr $= \frac{1}{1,84} = 0,543$ g Lävulose. Sonst verhält sich die Lävulose sehr ähnlich der Dextrose, mit Ausnahme der Reaktion nach Seliwanoff und der Eigenschaft, mit den sekundären asymmetrischen Hydrazinen ein Osazon zu bilden. Gegen Alkalien und Säuren ist sie empfindlicher. Bei der Einwirkung von wenig, selbst sehr verdünnter Salzsäure entsteht nach A. Wohl durch Reversion ein dextrinartiges, weniger reduzierendes und schwächer drehendes Produkt (Lävulosin). Durch Hefe wird die Lävulose vergoren; mit salzsaurem Phenylhydrazin gibt sie ein Phenylglykosazon. Durch Ätzkalk kann aus verdünnten Lösungen die Fructose beinahe quantitativ als Calciumverbindung ausgefällt werden. Im Harn ist die Lävulose durch Bleiessig fällbar.

D. Rohrzucker. Saccharose. $C_{12}H_{22}O_{11}$.

Wegen der hohen Assimilationsgrenze des Rohrzuckers geht dieser selbst nach dem Genuß von großen Mengen nicht unverändert in den Harn über, da im Darmkanal durch das hier vorhandene saccharospaltende Enzym, Invertin, eine vollständige Hydrolyse des Rohrzuckers erfolgt; es kann unter diesen Umständen Glykose (und Fruktose) im Harn auftreten und nur ausnahmsweise könnte es zu einer alimentären Saccharosurie kommen. Nach subkutaner und intravenöser Injektion geht dagegen die Saccharose nach F. Voit fast quantitativ in den Harn über, da der Organismus den Rohrzucker nicht direkt zu verarbeiten vermag.

Nach einzelnen Autoren (K. Smolenski¹⁾ fand in einem Harn Rohrzucker, und zwar schied der Patient nach Darreichen von Rohrzucker diesen im Harn reichlich aus) wäre die Cammidge'sche Reaktion vielleicht durch Saccharose veranlaßt, was aber wohl unwahrscheinlich ist. Nach R. Bernier²⁾ ist das Vorkommen von Saccharose im normalen Harn nicht selten.

Nachweis.

Rohrzucker reduziert Fehlingsche Lösung bekanntlich nur nach der Hydrolyse. Der Nachweis gelingt leicht durch Reduktions- und Polarisationsversuche vor und nach der Hydrolyse. Zur quantitativen Bestimmung können das nach der Behandlung mit Salzsäure (nach der Inversion) auftretende Reduktionsvermögen und die Ermittlung der polarimetrischen Werte vor und nach der Inversion dienen.

Zur Inversion erwärmt man 75 ccm Harn mit 5 ccm Salzsäure (1,19 spez. Gew.) 5 Minuten im Wasserbade bei 68–70°.

Der Harn, der Saccharose enthält, dreht vor der Inversion rechts, nach der Inversion links.

Das spez. Drehungsvermögen des Rohrzuckers beträgt $[\alpha]_D = +66,5^\circ$. 1 g Rohrzucker in 100 ccm Lösung bewirkt im 200 mm-Rohr eine Rechtsdrehung von $1,331^\circ$; 1° Drehung im 200 mm-Rohr $= 0,7513$ g Rohrzucker. Nach der Inversion dreht die Lösung (1 g in 100 ccm) $= 0,461^\circ$ links.

Zur quantitativen Bestimmung der Saccharose im Harn neben anderen Zuckerarten, empfiehlt A. Jolles³⁾ ein Verfahren, das auf der auch von ihm nachgewiesenen Tatsache beruht,

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1909. 60. 119.

²⁾ Journ. Pharm. et Chim. 1914. [7]. 9. 493.

³⁾ Biochem. Zeitschr. 1912. 43. 64; 1913. 57. 420; Chem. Ztg. 1913. 37. 1200.

daß mit Ausnahme des nicht direkt reduzierenden Rohrzuckers alle Mono- und Disaccharide (Dextrose, Lävulose, Invertzucker, Maltose, Galaktose, Arabinose, Laktose und Rhamnose) mit entsprechend starker Natronlauge längere Zeit bei 37° behandelt, optisch inaktiv werden; Saccharose bleibt vollkommen unverändert.

Ausführung.

Harne bis zu 5% Dextrose werden im Verhältnisse 1:1, Harne mit mehr als 5% Dextrose im Verhältnisse 1:2 mit destilliertem Wasser verdünnt.

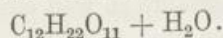
100 ccm der Lösung werden mit 2,5 ccm einer $\frac{4n}{1}$ Natronlauge versetzt und im geschlossenen Gefäße im Thermostaten ununterbrochen durch 24 Stunden bei 37° stehen gelassen. Hierauf wird abgekühlt und mit Essigsäure schwach angesäuert; 50 ccm werden mit 5 ccm Bleiacetat-lösung (1:10) auf 55 ccm aufgefüllt, umgeschüttelt, filtriert und polarisiert.

Beobachtet man eine geringe negative Enddrehung, so ist Saccharose nicht vorhanden. Ergibt sich eine positive Polarisation, so ist Saccharose im Harne vorhanden, und zwar entspricht 1° V. = 0,278% (0,26048 g in 100 ccm Lösung) Saccharose, wobei dann noch Rücksicht auf die Verdünnung zu nehmen ist. 1° Drehung in den Polarisationsapparaten von Laurent, Mitscherlich, Wild mit Kreisgradteilung bei 17,5° im 200mm-Rohr = 0,750 g Rohrzucker.

Die Methode gestattet nach Jolles noch 0,2% Saccharose im Harne mit Sicherheit nachzuweisen.

In Harnen, die β -Oxybuttersäure oder andere optisch aktive Substanzen, von Medikamenten herrührend, enthalten, ferner in Harnen, die in ammoniakalische Gärung übergegangen sind oder einen abnorm hohen Gehalt an Ammoniumsalzen aufweisen, gibt die Methode keine zuverlässigen Resultate.

E. Milchzucker. Lactose. Lactobiose. Galactoglucose.



Der Milchzucker kommt nach Untersuchungen von A. de Sinéty, Ch. Porcher, F. Hofmeister und Fehling nur im Harne von Wöchnerinnen vor bei Milchstauung, durch die eine Resorption des Zuckers aus der Drüse in die Säftemasse veranlaßt wird (Lactosurie). Der Milchzuckergehalt des Harnes übersteigt nach F. Blumenthal 1% nie; nach dem gleichen Forscher zeigen etwa 80% der Frauen, die nicht stillen oder das Säugegeschäft unterbrechen oder bei denen überreichliche Milchsekretion vorhanden ist, Lactosurie, und zwar beobachteten Blumenthal wie Pavy bei Frauen nach fünf Monaten nach der Entbindung noch Milchzuckerausscheidung. Man wird deshalb bei der Diagnose in solchen Fällen vorsichtig sein müssen, um diese Ausscheidung nicht mit Diabetes zu verwechseln, denn ein Milchzucker enthaltender Harn reduziert ebenfalls Fehlingsche und Wismutlösung, er dreht genau so stark nach rechts wie ein Traubenzucker enthaltender Harn; hier gibt vor allem die Gärprobe Aufschluß, da Milchzucker mit der gewöhnlichen Hefe der alkoholischen Gärung nicht unterliegt. Zu bedenken ist auch, daß während der Schwangerschaft und im Wochenbette unter Umständen Diabetes sich einstellen könnte, so daß die sichere Ermittlung der Art des ausgeschiedenen Zuckers von wesentlicher Bedeutung ist. Nach anderen Forschern (Naunyn, Porcher) kann die ausgeschiedene Milchzuckermenge bis auf 2–3%, ja sogar bis auf 4% steigen. Es gibt auch hier eine alimentäre Lactosurie.

F. A. Lemaire¹⁾ fand im Harne der Wöchnerinnen Milchzucker, in dem Harne der gleichen Frauen vor der Entbindung keinen.

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1895/96. 21. 442.

Nach Groß, Langstein und Steinitz wurden bei magendarmkranken Säuglingen Lactose und d-Galaktose im Harn vorgefunden.

Bei Diabetikern wird nach dem Genuß von Milhzucker Glykose ausgeschieden.

Darstellung.

1. Nach F. Hofmeister¹⁾ wird der Harn (500—1000 ccm) mit neutralem Bleiacetat versetzt, solange eine Fällung eintritt; es wird filtriert, der Niederschlag wird ausgewaschen, das Filtrat mit Bleiacetat und Ammoniak versetzt und einige Stunden stehen gelassen. Der den Milhzucker enthaltende Niederschlag wird abgesaugt, mit etwas Wasser nachgewaschen und das Filtrat geprüft, ob es noch rechts dreht oder reduziert; in diesem Falle wird die Fällung mit Bleiacetat und Ammoniak wiederholt. Der oder die vereinigten Niederschläge werden in Wasser verteilt, mit Schwefelwasserstoff zerlegt, dieser wird durch Durchsaugen eines Luftstromes entfernt, die Flüssigkeit wird mit frisch gefälltem Silberoxyd geschüttelt. Man filtriert, behandelt das Filtrat zur Entfernung des Silbers wieder mit Schwefelwasserstoff, filtriert nochmals und dampft das Filtrat nach Zusatz von kohlensaurem Baryt zur Bindung etwa vorhandener Essigsäure so weit ein, daß noch kein sirupartiger Rückstand entsteht, der mit so viel 90%igem Alkohol versetzt wird, bis ein flockiger Niederschlag sich bildet, der aber keine optisch wirkende Substanz enthalten darf.

Das alkoholische Filtrat setzt beim Eintrocknen im Exsiccator Krystalle ab, die durch Umkrystallisieren, Entfärben mit etwas Tierkohle oder durch Ausziehen mit kochendem (60—70%igem) Alkohol gereinigt werden.

2. Nach F. A. Lemaire kann der Milhzucker aus dem Harn zugleich mit den übrigen Kohlenhydraten durch die Benzoyl ester (S. 255) gewonnen und isoliert werden. Man verwendet 1—1½ Liter Harn. Der Benzoyl ester wird mit Natriumäthylat versetzt, Benzoesäure, Natriumsulfat und Alkohol werden entfernt (s. S. 257); die Zuckerlösung, die einen Gehalt von etwa 1—2% enthalten soll, widrigenfalls man einengt, wird mit Phenylhydrazin behandelt (S. 284). Man kocht eine Stunde im Wasserbade und filtriert heiß. Man kann für die Phenylhydrazinprobe auch den Harn nach der Behandlung mit Quecksilberacetat (S. 275) verwenden. Zum Unterschiede von den Phenylglykosazonkrystallen, die in heißem Wasser schwer löslich sind und auf dem Filter zurückbleiben, bleiben das Osazon des Milhzuckers und auch das der Isomaltose, die wohl nur in solchen Spuren vorhanden ist, daß sie nicht in Betracht kommen dürfte (s. Isomaltose), im Filtrate und scheiden sich daraus erst beim Abkühlen ab. Am besten kühlt man zur Trennung der Lactose und Glykose die heiße Lösung von der Behandlung mit Phenylhydrazin schnell ab; das Lactosazon scheidet sich aus. Man filtriert und wäscht den Niederschlag auf dem Filter zuerst mit kaltem und dann mit siedendem Wasser aus; das Lactosazon, in heißem Wasser 1:80 löslich,

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1877. 1. 104—108.

befindet sich im Filtrate und scheidet sich beim Erkalten aus; durch Lösen des ausgeschiedenen Lactosazons in einer möglichst kleinen Menge 50%igen Acetons wird es von Spuren Glykosazon gereinigt. Das Glykosazon bleibt auf dem Filter zurück. Das Phenyllactosazon krystallisiert in feinen zu Kugeln vereinigten Krystallnadeln, die nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus heißem Wasser einen Schmelzpunkt von 210°C besitzen.

Nach C. Neuberg zeigt eine Lösung von 0,2 g Osazon in einer Mischung von 4 ccm reinem Pyridin und 6 ccm absolutem Alkohol bei der Polarisation im 100 mm-Rohr eine Drehung von $\pm 0^{\circ}$ (S. 286).

Im allgemeinen sichern auch die Zunahme des Drehungs- und Reduktionsvermögens einer Lösung des isolierten Zuckers nach mehrstündigem Kochen mit 2–5%iger Schwefelsäure, das Fehlen der Gärungsfähigkeit innerhalb zwölf Stunden (s. Eigenschaften), der Schmelzpunkt ($203,5^{\circ}$), das negative Verhalten gegen das Barfoedsche Reagens (Lösung von 0,5 g essigsäuren Kupfers in 100 ccm Wasser und 1 g Essigsäure, nach anderer Mitteilung 13,3 g kryst. neutrales Kupferacetat in 200 ccm 1%iger Essigsäure gelöst), sowie die Krystallform für sich, und die des Phenyllactosazons, auch die Polarisation des Osazons den Nachweis des Milchzuckers. Glykose reduziert im Gegensatz zu Lactose Barfoedsches Reagens leicht. Im Harne direkt ist dieses Reagens aber nicht zu verwenden, da es schon von normalem Harne reduziert wird.

Zur Unterscheidung von pentosehaltigem Harne kann man die für Pentose charakteristischen Reaktionen in Anwendung ziehen.

Nachweis.

1. Nach M. Rubner¹⁾ färbt sich eine Lösung von Milchzucker bei dem drei bis vier Minuten dauernden Kochen mit viel Bleizucker gelb bis gelbbraun; nach Zusatz von Ammoniak tritt ziegelrote Färbung ein, zugleich scheidet sich ein schön kirsch- bis kupferroter Niederschlag ab. Wenn auch Traubenzucker vorhanden ist, ist die Probe unsicher.

G. Buchner²⁾ empfiehlt folgende Ausführung:

Man versetzt in einem Reagenzglase etwa 10 ccm Harn mit drei Tropfen Ammoniaklösung (0,96 spez. Gewicht) und setzt vier bis fünf Tropfen Bleizuckerlösung zu. Das Reagenzrohr bringt man ins Wasserbad; bei Gegenwart von Glykose färbt sich der anfangs weiße Niederschlag bald fleischfarbig bis ockergelb, während bei Gegenwart von Lactose der Niederschlag reinweiß bleibt.

2. Reaktion nach A. Wöhlk³⁾-H. Malfatti.⁴⁾

Zu 5 ccm Harn fügt man etwa die Hälfte des Volumens starke Ammoniakflüssigkeit, mindestens 10%ig, und etwa 5 Tropfen

¹⁾ Zeitschr. Biolog. 1884. 20. 405.

²⁾ Münch. med. Wochenschr. 1898. 45. 749. 788.

³⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1904. 43. 670.

⁴⁾ Zentralbl. Harn. u. Sexualorg. 1905. 16. 68.

Kalilauge und erwärmt in einem heißen, aber nicht siedenden Wasserbade; oft schon nach 5 Minuten tritt bei Anwesenheit von Milhzucker eine Rotfärbung auf; bei einem Gehalte von nur 0,2% Milhzucker bemerkt man die Färbung erst nach etwa 10 Minuten.

Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Traubenzucker entsteht eine bräunlich-rote oder rein braune Färbung, je nach der Menge des Traubenzuckers; wenn diese unter 1% beträgt, wird die Empfindlichkeit der Wöhler-Malfattischen Probe nur unwesentlich beeinträchtigt.

3. Fränkel empfiehlt die Tollens-Salkowskische Probe.

In 2 ccm reiner rauchender Salzsäure (1,19 spez. Gew.) löst man in der Wärme Phloroglucin, bis etwas ungelöst bleibt. Man kocht und setzt 2 ccm Harn zu; es entsteht eine kirschrote Färbung. Bei größeren Zuckermengen setzt sich ein gefärbter Niederschlag ab, der nach dem Auswaschen in 2 ccm Alkohol gelöst wird.

Die kirschrote Lösung zeigt im Spektroskope keine Absorptionsstreifen zum Unterschiede von Pentosen und von Glykuronsäuren.

4. K. Herzberg¹⁾ empfiehlt den Nachweis kleinster Milhzuckermengen im Harn durch Bildung von Formaldehyd.

10 ccm eiweißfreier klarer Harn werden mit 0,2 g essigsäurem Phenylhydrazin und 0,4 g Natriumacetat 20 Minuten im siedenden Wasserbade gehalten und langsam abgekühlt; eine nach 24 Stunden entstandene Abscheidung wird auf einem kleinen Filter gesammelt, zweimal mit kaltem Wasser gewaschen und in siedendem Wasser gelöst. 2–5 ccm der Lösung werden mit soviel Oxydationsgemisch (40 ccm 1%ige Kaliumpermanganatlösung, 100 ccm Wasser, 60 ccm verdünnte Schwefelsäure) versetzt, daß nach dem Erhitzen ein Niederschlag von Braunstein bleibt; nach 5 Minuten wird mit 5 Tropfen gesättigter Oxalsäurelösung entfärbt, mit einer Messerspitze Pepton erwärmt, mit 1 Tropfen 3%iger Eisenchloridlösung und $\frac{1}{2}$ Vol. konz. Salzsäure versetzt und eine halbe Minute im Sieden gehalten. Bei Milhzuckeranwesenheit — Blaufärbung.

Beurteilung der qualitativen Reaktionen.

Ganz zuverlässig sind die Proben sämtlich nicht, wenn sie mit dem Harn direkt vorgenommen werden; es ist am sichersten, mit dem rein dargestellten Zucker die Reaktionen anzustellen. Unzulänglich für eine Diagnose sind die in der angegebenen Weise (s. Eigenschaften) vorgenommene Gärprobe, also mit sterilisiertem Harn und unter Verwendung von *Saccharomyces apiculatus*, und die Phenylhydrazinprobe.

Zu bemerken ist, daß sich bei der Gärprobe Pentose wie Milhzucker verhält.

Quantitative Bestimmung.

1. Durch Titration mit der Fehlingschen Lösung. 10 ccm = 0,0676 g Milhzucker (in 1%iger Lösung bei einer Kochdauer von 6 Minuten).
2. Colorimetrische Bestimmung des Milhzuckers im Harn nach W. Autenrieth und A. Funk.²⁾

Erfolgt mit dem Colorimeter von Autenrieth-Koenigsberger. Die Ausführungsweise der Bestimmung wird von der das Colorimeter liefernden Firma Hellige & Cie. in Freiburg mit zugesandt.

¹⁾ Biochem. Zeitschr. 1921. 119. 81.

²⁾ Münch. med. Wochenschr. 1911. 58. 1717.

3. R. Bauer¹⁾ gibt folgendes Verfahren an:

Prinzip.

Milhzucker und galactosehaltiger Harn wird mit Salpetersäure oxydiert und die aus dem Zucker entstandene Schleimsäure ermittelt.

Ausführung.

100 ccm Harn werden mit 20 ccm reiner konz. Salpetersäure (spez. Gew. 1,4) versetzt und in einem breiten, wenig tiefen Becherglase im siedenden Wasserbade eingedampft. Der Harn wird beim Zusatz der Salpetersäure gewöhnlich dunkel, beim Erwärmen aber bald wieder heller und bleibt hell, bis er auf 40–50 ccm eingedampft ist. In diesem Stadium beginnt die Flüssigkeit sich mehr braun zu färben, gerät in gelindes Schäumen und es entweichen, insbesondere beim Schütteln, braune Dämpfe, die Oxydation findet statt. Diese Entwicklung von braunen Dämpfen dauert gewöhnlich so lange, bis der Harn auf ein Volumen von 20 ccm eingedampft ist; dann wird die Flüssigkeit heller, hört auf zu schäumen, und man sieht, daß sich in der gelben, früher klaren Flüssigkeit ein feiner weißer Niederschlag bildet, der rasch an Masse zunimmt. Man nimmt nun das Becherglas aus dem Wasserbade, bringt den Inhalt in ein kleineres Gläschen und wäscht zweimal mit etwas destilliertem Wasser nach. Der Niederschlag nimmt in der Kälte rasch zu, weshalb man am besten die eingedampfte Flüssigkeit über Nacht am kühlen Orte stehen läßt. Nun wird mit Wasser verdünnt und der Niederschlag auf ein Filter gebracht. Nach wiederholtem Waschen mit destilliertem Wasser, auch mit Alkohol und Äther, wird der Niederschlag getrocknet und gewogen. 2 g Schleimsäure entsprechen 2,5 g Galaktose, 0,5 g = 0,62 g.

Zu bemerken wäre noch, daß die Menge der zugesetzten Salpetersäure eine Rolle spielt und daß dieser Zusatz nach der Menge der im Harn enthaltenen oxydierbaren Substanzen, für die das spezifische Gewicht einen genügenden Anhaltspunkt liefert, zu bemessen ist; gewöhnlich hat man zu 100 ccm Harn 20 ccm Salpetersäure zuzusetzen, bei Harn, der ein höheres spezifisches Gewicht als 1,020 hat, ist mehr Salpetersäure, etwa 25 bis 35 ccm, zuzugeben. Das Eindampfen ist bis auf 20 ccm vorzunehmen, die Oxydation, die Entwicklung von braunen Dämpfen muß aber erst stattgefunden haben. Schleimsäure erhält man aus Harn, der mindestens 1% Galaktose enthält; die Ausbeute ist nicht konstant; man erhält nur etwa 70–80% der vorhandenen Galaktose. Auch zum Nachweise des Milhzuckers kann die Methode verwendet werden.

Eigenschaften.

Der wie angegeben erhaltene Milhzucker krystallisiert in vierseitigen Prismen (Schmelzp. 203,5°) und verliert sein Wasser bei 130°, schneller bei 140–145°; er löst sich in Wasser, ist unlöslich in absolutem Alkohol und in Äther. Er reduziert Metalloxyde in alkalischer Lösung, dreht die Polarisationssebene nach rechts $[\alpha]_D = +52,53^\circ$ für das Hydrat bei 20° C (Hesse & Schmoeger). Frische Lösungen zeigen Multirotation. Mit verdünnten Säuren gekocht (1 T. Laktose und 10 T. 2%ige Schwefelsäure 4 Stunden auf dem Wasserbade erhitzt) geht er in gleiche Teile Traubenzucker (d-Glukose) und in direkt gärfähige d-Galaktose über; das gleiche erfolgt durch Emulsin. Das Drehungsvermögen des „invertierten“ Milhzuckers ist +68,5°. Durch Salpetersäure wird der Milhzucker zu schwer löslicher Schleimsäure oxydiert; mit essigsaurem Phenylhydrazin erwärmt gibt er das näher beschriebene, in heißem Wasser lösliche Phenyl-lactosazon. Er unterliegt der alkoholischen Gärung durch Alkoholhefen zwar nicht, doch ist die Vergärungsprobe nur dann beweisend, wenn eine Reinkultur von *Saccharomyces apiculatus* (Voit) Anwendung gefunden hat und wenn der Harn vorher durch zweistündiges Erhitzen im strömenden Dampf sterilisiert war; manche Handelshefen sind so unrein, daß sie oft auch den Milhzucker rasch angreifen, wenn auch im allgemeinen die Hefe innerhalb 12 Stunden mit Milhzucker keine Kohlensäure entwickelt. Durch Kefyr

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1907. 51. 158.

und besondere Hefearten, auch durch Spaltpilze, durch ein Enzym (Lactase) wird der Milchzucker in Gärung versetzt. Nach Tanret tritt auch der Milchzucker in drei Modifikationen auf, was allerdings beim Harn nicht in Betracht kommt.

Galaktose (nicht zu verwechseln mit Laktose oder Milchzucker).

Die, wie oben erwähnt, beobachtete d-Galaktose, eine Aldose $C_6H_{12}O_6$ krystallisiert mit 1 Mol. Krystallwasser aus Wasser in Prismen oder Nadeln und schmilzt bei 118–120°; wasserfrei wird sie aus Methyl- oder Äthylalkohol erhalten und zeigt dann einen Schmelzpunkt von 168 bis 170°. Die für den Harn in Betracht kommende Galaktose besitzt ein Drehungsvermögen von $[\alpha]_D^{20} = +81,3^\circ$. Galaktose ist mit Hefe, wenn auch langsam, vergärbare; notwendig ist hierbei der Zusatz von Nährlösungen. Die Reduktionserscheinungen stimmen mit den der Glykose überein, das Reduktionsvermögen ist dem der Lävulose gleich. Zur Orientierung kann das Verhältnis zwischen Polarisation und Titration dienen. Das Galaktosazon unterscheidet sich vom Glukosazon durch den Schmelzpunkt, von dem Laktosazon durch seine schwere Löslichkeit in kaltem und heißem Wasser. Bei an Galaktose reichem Harn kann man diesen in der bekannten Weise mit Phenylhydrazinchlorhydrat und Natriumacetat (Phenylhydrazin und Essigsäure) behandeln, bei Harn, der arm ist an Galaktose, behandelt man den Harn vorher mit Quecksilbernitratlösung (S. 296), engt das Filtrat, aus dem man das Quecksilber durch Schwefelwasserstoff entfernt hat, auf dem Wasserbade ein und erwärmt etwa 1–2 Stunden mit essigsäurem Phenylhydrazin. Das nach dem Abkühlen ausfallende Osazon sammelt man auf einem Filter, bringt etwa beigemengtes Laktosazon durch Waschen mit heißem Wasser in Lösung und krystallisiert zurückbleibendes Galaktosazon aus verdünntem Alkohol um; man wäscht mit Äther und trocknet. Schmelzpunkt 194°. Zum Unterschiede von der Glykose kann man auch die Darstellung der Schleimsäure benützen (S. 343).

Mit Phloroglucin gibt die Galaktose eine ähnliche Reaktion, wie die Pentosen, die Lösung zeigt aber zum Unterschiede keinen Absorptionsstreifen.

Bei gesunden Menschen geht die Galaktose nach dem Genuß von geringen Mengen (20 g) in den Harn über (F. Voit); bei Diabetikern wird die Ausscheidung von Traubenzucker erhöht; ein Ausscheiden von Galaktose erfolgt hier nicht.

F. Maltose, Isomaltose. $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$.

Maltose haben nach ihren Angaben C. Le Nobel¹⁾, F. v. Ackeren²⁾, Rosenheim und Flatow, sowie R. Lépine³⁾ und Boudin im Harn beobachtet, und zwar in einer 0,1–0,5% betragenden Menge; Kottmann fand Maltose bei Diabetes, ebenso H. Ch. Geelmuyden⁴⁾, letzterer in 4 Fällen. Angeblich hat man Maltose bei mit Glykosurie verbundenen Erkrankungen des Pankreas gefunden.

Die Maltose zeigt in ihren Eigenschaften die meiste Ähnlichkeit mit der Dextrose.

Zum Nachweis und zur Identifizierung stellt man in der aus den abgeschiedenen Benzoylestern gewonnenen Zuckerlösung (S. 257) das Osazon her; der Stickstoffgehalt des Osazons der Maltose beträgt etwa 10%, der des Osazons der Dextrose 15,7%. Weiter zeigt das Maltosazon in Pyridinalkohol (4 ccm Pyridin, 7 ccm abs. Alkohol) eine Ablenkung des polarisierten Lichtes nach rechts, während das Glykosazon eine Linksdrehung bewirkt (C. Neuberg).

Zum Nachweise kleiner Mengen von Maltose neben Glykose wird nach L. Grimbert⁵⁾ die die genannten Zucker enthaltende Lösung (der vorbereitete und wenn nötig konzentrierte Harn) auf je 20 ccm mit 1 ccm Phenylhydrazin und 1 ccm Eisessig versetzt, eine Stunde auf dem siedenden Wasserbade erwärmt und dann abgekühlt. Das gebildete und gesammelte Osazon wird erst mit kaltem Wasser, dann nach dem Trocknen mit Benzol gewaschen und bei 100° getrocknet. Das gereinigte Osazon erhitzt man auf dem siedenden Wasserbade fünf Minuten und filtriert rasch. Im Filtrate scheiden sich dann beim Abkühlen die Maltosazonkrystalle aus. Oder man verreibt das Osazon in einem Glasmörser mit recht wenig Aceton, mit dem gleichen Volumen Wasser versetzt, und überläßt das Filtrat der Krystallisation. Maltosazon krystallisiert aus; Schmelzpunkt 205°.

Das Phenylmaltosazon krystallisiert aus heißem Wasser in schönen gelben, jedoch nicht zu Aggregaten vereinigten Nadeln (Unterschied vom Phenyllactosazon); es löst sich in 75 Teilen heißen Wassers. 0,2 g des Maltosazons drehen in dem Pyridinalkoholgemische (s. o.) im 100 mm-Rohr + 1° 30'.

¹⁾ Archiv klin. Mediz. 1888. 43. 165.

²⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1889. 26. 293.

³⁾ Ebenda. 1898. 35. 317; Compt. rend. de l'Acad. des Scienc. 1901. 132. 610.

⁴⁾ Chem. Ztg. 1907. 31. 160.

⁵⁾ Journ. Pharm. Chim. 1903, 7 Sér. 17. 225.

Zum weiteren Nachweis können die Eigenschaften benützt werden, daß das Drehungsvermögen der Maltose etwa $2\frac{1}{2}$ mal größer ist wie das des Traubenzuckers, während das Reduktionsvermögen nur ungefähr $\frac{2}{3}$ von dem der Glucose ausmacht. 0,5 g Maltose verbrauchen bei einer Kochdauer von 4 Minuten in 1%iger Lösung 64,2 ccm unverdünnte Fehlingsche Lösung; 1 ccm Fehling = 0,00778 g Maltose. Diese Feststellungen allein können aber niemals beweisend für die Anwesenheit der Maltose sein, da Pentosen, Glucuronsäureverbindungen, Fructose usw. störend einwirken können. Ein sicherer, exakter Nachweis ist nur möglich, wenn der Gehalt an Maltose im Harn ein reichlicherer ist; dazu kommt weiter noch, daß die Gärprobe (s. Eigenschaften), die Darstellung und optische Untersuchung des ja besonders gekennzeichneten Maltoseosazons in den Kreis der Prüfungen einzubeziehen sind.

H. Chr. Geelmuyden¹⁾ hat sich mit dem Entwurf einer Methode zur quantitativen Bestimmung mehrerer Zuckerarten nebeneinander in diabetischem Harn, auch von Maltose beschäftigt.

Eigenschaften.

Maltose ist in Wasser leicht, in Weingeist schwerer löslich als Traubenzucker; sie vergärt mit Hefe — eine Reinzucht von *Saccharomyces Marxianus* greift sie aber nicht an, was zur Trennung von Traubenzucker benützt werden kann —, dreht rechts (spez. Drehung $[\alpha]_D = +137^\circ$) und reduziert alkalische Kupferlösung; eine schwach essigsaure Lösung von Cupriacetat soll zum Unterschiede von Traubenzucker nicht reduziert werden. Durch verdünnte Mineralsäuren und durch Enzyme (Maltase) wird die Maltose in 2 Mol. Traubenzucker gespalten.

Die Isomaltose wurde von K. Baisch²⁾, von A. Lemaire³⁾ u. a. im Harn vorgefunden.

Da die Isomaltose schon bei der Einwirkung sehr verdünnter Säuren aus dem Traubenzucker entsteht, so ist noch nicht mit aller Sicherheit erwiesen, ob diese nicht erst bei der Isolierung und Darstellung aus dem vorhandenen Traubenzucker entstanden ist.

Die Eigenschaften schwanken je nach dem Entstehen, der Bildung und Darstellung.

Isolierung.

Lemaire ließ die nach S. 257 gewonnene Zucker- oder Kohlenhydratlösung mit Hefe und etwas Wittes Pepton 48 Stunden vergären, vermischte dann die Flüssigkeit mit Alkohol, um Hefe und Pepton durch Filtration trennen zu können, und entfernte aus dem Filtrate den Alkohol. Die Flüssigkeit zeigte Rechtsdrehung und reduzierte Fehlingsche und Wismutlösung.

Bei der Behandlung mit salzsaurem Phenylhydrazin und Natriumacetat blieb die Flüssigkeit vollkommen klar, solange sie heiß war. Erst beim Abkühlen bildete sich der aus sehr feinen Krystallen bestehende Niederschlag mit dem Schmelzpunkte von 150—151°.

Nachweis.

1. Das Osazon, zitronengelbe sehr feine Nadeln in kugeligen Drusen, Rosetten, schmilzt bei 150—153° und löst sich zum Unterschiede von Maltosazon in 4 Teilen heißen Wassers. Das Osazon muß aber rein sein und darf nicht durch Maltosazon verunreinigt sein; zum Umkrystallisieren empfiehlt sich die Verwendung feuchten Essigäthers (E. Fischer⁴⁾).
2. Die Isomaltose gärt nicht mit Bierhefe. Die Unvergärbarekeit ist die sicherste Probe zur Unterscheidung von der Maltose (E. Fischer⁴⁾).
3. Fehlingsche und Wismut-Lösung werden reduziert.

G. Tierisches Gummi. Harndextrin ($C_6H_{10}O_5$) + H_2O .

H. A. Landwehr⁵⁾ war der Erste, der die Anwesenheit eines dextrinartigen Kohlenhydrates im normalen Harn durch Abscheidung der unlöslichen Kupferverbindung nachgewiesen hat. Er nannte dieses Kohlenhydrat, das aus der Lösung der Kupferverbindung in wenig Salzsäure durch absoluten Alkohol als feinflockiger Niederschlag abgeschieden wurde, tierisches Gummi. Weitere Untersuchungen von N. Wedenski⁶⁾ und K. Baisch⁷⁾ haben das Vorkommen eines dextrinartigen Körpers im Harn bestätigen können; die Genannten haben gefunden, daß die von ihnen isolierte Substanz in ihren Eigenschaften mit denen des von Landwehr gefundenen tierischen Gummis übereinstimmt. v. Alfthan⁸⁾ hat ebenfalls dieses tierische Gummi im normalen, wie im diabetischen Harn nachweisen können.

Die Reingewinnung, d. h. auch die Isolierung, ohne daß Veränderungen bei der Herstellung erfolgen können und die Identifizierung der in Frage stehenden Körper sind sehr schwierige;

¹⁾ Zeitschr. analyt. Chem. 1909. 48. 137.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1894. 19. 364. 20. 248.

³⁾ Ebenda. 1895. 21. 446.

⁴⁾ Berl. Bericht. 1890. 23. 3687; 1895. 28. 3024.

⁵⁾ Centralbl. med. Wissensch. 1885. 23. 369; Zeitschr. physiol. Chem. 1881. 5. 371; 1882. 6. 74; 1884. 8. 122; 1895. 9. 361; Archiv ges. Physiol. 1886. 39. 193; 1887. 40. 35.

⁶⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1889. 13. 122.

⁷⁾ Ebenda. 1894. 19. 339.

⁸⁾ Centralbl. med. Wissensch. 1900. 28. 851.

ob die beschriebenen Körper wirklich rein und unverändert aus dem Harn gewonnen worden sind, ist nicht mit absoluter Sicherheit festgestellt; nach den Mitteilungen von F. Müller, Weydemann, O. Folin, I. B. Leathes wird es sich nicht um einen einheitlichen Körper, sondern um Mischungen gehandelt haben. Zur Herstellung des Harndextrins sind verschiedene Verfahren angegeben, wovon jedes wahrscheinlich zu anderen Körpern oder Produkten führt; ein einheitlich zusammengesetzter Körper ist noch nicht bekannt. E. Salkowski hat im Harn von Krebskranken einen dextrinartigen Körper beobachtet, der vielleicht auch mit kolloidalen Kohlenhydraten des Harnes in Beziehung zu bringen ist.

Gewinnung und Isolierung.

Landwehr behandelte den Harn mit Kupfervitriol und Natronlauge, löste den ausgewaschenen und getrockneten Niederschlag in recht wenig Salzsäure, gab drei Volumen absoluten Alkohols hinzu und erwärmte auf 60°. Der feinflockige Niederschlag wurde nochmals in Wasser gelöst und wieder durch Alkohol gefällt.

Nach Lemaire wird bei der Verseifung des Benzoylestere der Kohlenhydrate mit Natriumäthylat (S. 257) die Flüssigkeit nicht klar; es bildet sich eine flockige Fällung; diese wird abfiltriert, in Wasser gelöst, die Lösung von unlöslichen Bestandteilen getrennt, nochmals in Wasser gelöst und mit Alkohol gefällt. Schließlich wird die abfiltrierte Fällung mit absolutem Alkohol und mit Äther gewaschen und dann getrocknet.

Nachweis.

1. Mit Kupfersulfat und Natronlauge gibt die wässrige Lösung einen flockigen, blauen, beim Kochen sich nicht schwärzenden Niederschlag; Fehlingsche Lösung wird nicht direkt reduziert.
2. Durch absoluten Alkohol wird die Substanz aus ihrer Lösung gefällt.
3. Nach längerem Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure liefert sie eine Fehlingsche Lösung reduzierende Substanz.
4. Sie reagiert in bekannter Weise mit Benzoylchlorid und Natronlauge.
5. Sie gibt noch in starker Verdünnung die Furfurolreaktion.

Eigenschaften.

Weißes, mehlartiges Pulver, dessen weitere Eigenschaften beim Nachweise erwähnt sind. Die nach Landwehr, Lemaire gewonnenen Substanzen sind stickstofffrei oder enthalten Stickstoff nur in geringen Mengen, wohl als Verunreinigung. Ein nach E. Salkowski¹⁾ dargestelltes Produkt ist stark stickstoffhaltig; diese dextrinartige Verbindung soll im Harn Carcinomatöser reichlicher vorhanden sein.

H. Glykogen. Erythro-dextrin.

Im Harn von Diabetikern, besonders nach dem Gebrauche von Karlsbader Wasser, beim Abnehmen und Verschwinden des Zuckers fanden sowohl E. Reichardt wie W. Leube, dann auch Y. Kotake²⁾ dextrinartige, mit Jod sich braunrot färbende Substanzen, die alkalische Kupferlösung erst nach längerem Kochen reduzierten. Reichardt hielt diese Substanzen für Dextrin, Erythro-dextrin, Leube für Glykogen. v. Althaus fand im Harn von Diabetikern Glykogen, dessen Vorkommen im diabetischen Harn auch leichter erklärlich wird, wie das von Erythro-dextrin.

Am nächstliegenden ist namentlich bei den im Harn auftretenden komplizierten Kohlenhydraten der Gedanke, daß wir es mit dem vollständigen Abbau entgangenen Produkten zu tun haben (Abderhalden).

Nachweis.

Die Substanzen wurden aus Harn durch Fällen mit Alkohol, Lösen der Fällung mit Wasser und Wiederfällen mit Alkohol usw. gewonnen.

Nach O. Simon³⁾ werden 90 ccm Harn mit 10 ccm 40%iger Kalilauge versetzt; die vom erhaltenen Phosphatniederschlag abfiltrierte Lösung wird mit 10 g Jodkalium und mit 50 ccm 90%igem Alkohol vermischt; bei Anwesenheit von Glykogen scheidet sich dieses flockig ab. Uratreiche Harn geben krystallinische Niederschläge.

Eigenschaften.

Beide Substanzen sind weiße mehlartige Produkte, das Erythro-dextrin ist hygroskopisch und wird bald feucht und klebend. Die spezifische Drehung des Glykogens ist nach H. Huppert $[\alpha]_D = +196,6^\circ$, die des Erythro-dextrins nach Lintner und Düll $+196^\circ$. Mit Jod oder Jodkalium (Goldstein) färben sich beide kastanienbraun. Gefällt werden beide durch Barythydrat, Kalkhydrat, Bleiessig, starke Essigsäure, Phosphorwolframsäure (aus salzsaurer Lösung). Mit verdünnter Schwefelsäure gekocht, geben sie reduzierende Zucker.

¹⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1905. 42. Nr. 51 u. 52; 1910. 47. Nr. 12. 38. 50.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1910. 65. 414.

³⁾ 74. Versammlung deutsch. Naturf. u. Ärzte. Karlsbad 1903. Pharm. Centrbl. 1903. 44. 478.