

Untersuchungen über den Kohlehydratgehalt des faulenden Menschenharns.

Von

Dr. med. G. Treupel.

(Aus dem Laboratorium des Herrn Professor Dr. Baumann, Freiburg i. B.)

(Der Redaction zugegangen am 6. August 1891.)

Dass bei der Fäulniss des Harns merkliche Mengen von Fettsäuren gebildet werden, ist seit längerer Zeit bekannt. Nach Neubauer's¹⁾ Beobachtungen kann man aus jedem alten Harn, insbesondere dem diabetischen, Essigsäure in erheblicher Menge mit Leichtigkeit abscheiden. Röhmann²⁾, welcher zuerst versuchte, die Bildung von Säuren bei der Harngährung auf den Zuckergehalt des normalen Harns zurückzuführen, fand, dass ein Zusatz von geringen Mengen von Zucker (0.25%) zum Harn die Säurebildung (bei der sogenannten sauren Harngährung) ganz erheblich vermehrt. Damals war indessen der Gehalt des normalen Harns an Zucker noch keineswegs erwiesen, und aus diesem Grunde war es damals nicht möglich, aus jenen Versuchen bestimmtere Schlüsse auf die Art der Entstehung der im normalen Harn bei der Gährung auftretenden Säuren zu ziehen. Seitdem durch die Darstellung der Benzoyl ester von Zuckerarten aus normalem Harn [Baumann³⁾, Wedenski⁴⁾], ferner durch die ungemein empfind-

¹⁾ Neubauer u. Vogel, Analyse des Harns, 7. Aufl., 1876, S. 8.

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 5, S. 102.

³⁾ Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch., Jahrg. XIX, S. 3218.

⁴⁾ Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XIII, S. 120 u. ff.

liche Furfurolreaction von v. Udránszky¹⁾ (Molisch) der Zuckergehalt des normalen Harns sicher bewiesen ist, hat die Frage nach der Säurebildung bei der Zersetzung des Harns ein erneutes Interesse gewonnen.

Salkowski²⁾ hat vor wenigen Jahren die Untersuchung dieser Beziehungen wieder aufgenommen und in Uebereinstimmung mit älteren Autoren gefunden, dass der gefaulte Harn grosse Mengen von Essigsäure neben einigen anderen Fettsäuren enthält, und dass diese Säuren im Wesentlichen aus den Kohlehydraten des Harns gebildet werden. Salkowski hat dabei die Beobachtung gemacht, dass der gefaulte Harn noch nach längerer Zeit die Reactionen zeigt, durch welche v. Udránszky den Zuckergehalt des normalen Harns erwiesen hat, wonach mithin die Zersetzung der Kohlehydrate bei der ammoniakalischen Harngährung keine ganz vollständige zu sein scheint (vergl. auch später S. 64). Diese Wahrnehmung erinnert an eine von Liebig³⁾ gemachte Beobachtung, welcher fand, dass, wenn man dem frischen Harn Zucker oder Milchzucker zusetzt und ihn wie gewöhnlich faulen lässt, noch nach 3 Monaten unveränderter Zucker oder Milchzucker sich vorfindet. Die Beobachtung Salkowski's ist aber noch leichter verständlich, wenn man sich erinnert, dass — wie Wedenski⁴⁾ und Luther⁵⁾ gezeigt haben — der Zuckergehalt des Harns nur zum Theil aus Traubenzucker, wahrscheinlich zum grösseren Theil aus einer dextrinartigen Substanz, welche mit dem «thierischen Gummi» von Landwehr⁶⁾ identisch ist, besteht; letzteres gehört aber jedenfalls zu den beständigsten Körpern unter den Kohlehydraten.

Dieser Punkt ist bei den Berechnungen, welche Salkowski über die Mengenverhältnisse von Zucker und Säure

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XII, Heft 5. S. 380.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XIII, S. 270, 1889.

3) Ann. d. Chem. u. Pharmac., Bd. 50, S. 163.

4) L. c.

5) E. Luther, Ueber das Vorkommen von Kohlehydraten im normalen Harn. I.-D., Freiburg i. B. 1890, S. 32.

6) Centralblatt f. d. medic. Wissenschaft, 1885, No. 21.

des faulenden Harns anstellt, nicht berücksichtigt; denn Sal-kowski geht dabei von der nicht zutreffenden Voraussetzung aus, dass der Kohlehydratgehalt des Harns nur aus Traubenzucker bestehe.

Um die Veränderungen nun genauer zu ermitteln, welche der Kohlehydratgehalt des Harns bei der Harn-gärung erfährt, sind die im Folgenden beschriebenen Untersuchungen — auf Anregung des Herrn Prof. Dr. Baumann und mit seiner gütigen Unterstützung — von mir vorgenommen worden.

Die Methode, welche ich benutzte, um mir über den jeweiligen Gehalt an Kohlehydraten eines faulenden Harns Anschluss zu verschaffen, war fast ausschliesslich die oben erwähnte Furfurolreaction mit α -Naphthol und Schwefelsäure. Ihre Resultate habe ich dann des Oefteren mit denen verglichen, welche die Benzoylirung des Harnes nach Baumann¹⁾ lieferte. Es sei mir gestattet, ehe ich die Ergebnisse der einzelnen Harnuntersuchungen anführe, Einiges über die Furfurolreaction selbst zu sagen, und die Erfahrungen, welche ich bei der Anwendung dieser Methode zu machen Gelegenheit hatte, hier niederzulegen. Auf die Methode der Benzoylirung des Harnes werde ich später eingehen.

Vor mehreren Jahren hat Molisch²⁾ für die Zwecke klinischer Harnuntersuchungen eine Zuckerreaction angegeben, welche darin besteht, dass in den mit α -Naphthol versetzten Harnen auf Zusatz von concentrirter Schwefelsäure eine charakteristische sherry- bis rubinrothe resp. violette Färbung eintritt. L. von Udránszky³⁾ erkannte dann, dass diese Reaction auf der Bildung von Furfurol beruhe, welches mit α -Naphthol diese charakteristische Färbung gibt, und dass sie nicht nur dem Traubenzucker allein, sondern allen Kohlehydraten überhaupt zukomme. Er war es auch, der auf Grund sehr zahlreicher Harnuntersuchungen die Reaction zu einer Methode gestaltete, welche zur praktischen Untersuchung

¹⁾ Ber. d. deut. chem. Ges., XIX, S. 3218.

²⁾ Sitzungsberichte d. Wien. Akad. d. Wissenschaft., Bd. XCIII, 2. Abth., S. 912.

³⁾ Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XII, Heft 5, S. 380.

sich eignete¹⁾. Nach dieser Methode hat dann Luther²⁾ in seiner Inaugural-Dissertation gearbeitet. Die Erfahrungen, welche er dabei gemacht hat, sind dort, S. 7—16, ausführlich besprochen. Den von Luther angegebenen Modificationen schliesst sich im Wesentlichen Roos³⁾ an und endlich sprechen sich Posner und Epenstein⁴⁾ für die praktische Verwerthbarkeit der « α -Naphtholprobe auf Zucker» entschieden aus.

Während von Udránszky, Luther und Roos sich bei Beobachtung der Reaction an den violetten Farbering hielten, welcher an der Schichtgrenze zwischen Schwefelsäure und der mit α -Naphthol und Wasser versetzten Substanz entsteht, beobachteten die letztgenannten Autoren die Farbe des Reaktionsgemisches, welches sie entsprechend mit Wasser verdünnten und alsdann mit vorher angefertigten, ebenso behandelten, künstlich hergestellten Zuckerharnen von bekanntem Gehalt verglichen.

Auch ich habe mich bei der Beobachtung der Reaction an die Farbe des Reaktionsgemisches auf Grund später zu erörternder Erfahrungen gehalten. Indessen ist stets auch die Ringprobe beachtet worden und es sollen die Grenzbestimmungen bei einzelnen Harnuntersuchungen später angeführt werden.

Als ich bei meinen Voruntersuchungen mit dem Verlauf der Reaction bekannt wurde und — mich dabei an die Vorschriften Luther's haltend — zunächst die Reinheit der Reagentien prüfte, stellte sich heraus, dass die Schwefelsäure, welche mir zu Gebote stand, keineswegs den Grad von Reinheit besass, welchen Luther dafür verlangt. Enthält nämlich die Schwefelsäure geringste Spuren von Salpetersäure, welche

¹⁾ L. c., S. 387.

²⁾ E. Luther, Ueber das Vorkommen von Kohlehydraten im normalen Harn, I.-D., Freiburg i. B. 1899.

³⁾ E. Roos, Ueber das Vorkommen von Kohlehydraten im Harn von Thieren, I.-D., Freiburg i. B. 1891.

⁴⁾ «Studien zum Diabetes» von Dr. C. Posner und Dr. H. Epenstein, Sonderabdruck aus d. Berlin. klin. Wochenschr., 1891, No. 8.

man selbst mit keiner der sonst gebräuchlichen Methoden — z. B. Auftreten eines braunen Ringes an der Schichtgrenze, wenn man die zu prüfende Schwefelsäure vorsichtig unter eine Auflösung von Eisensulfat schichtet — nachweisen kann, so entsteht nach Luther beim Zusatz von α -Naphthol zu Schwefelsäure Grünfärbung. Als genügend rein kann man unter Anderem nach ihm die Schwefelsäure erst dann bezeichnen, wenn nach Zusatz von 1 Tropfen α -Naphthol zu 1 cbcm. Schwefelsäure und Umschütteln nur eine Gelbfärbung oder eine schwache Grünfärbung entsteht, welche fast momentan einer reinen Gelbfärbung Platz macht. Da ich eine solche Schwefelsäure nirgendwoher erhalten konnte und auf Selbstdestillation der mir zu Gebote stehenden Schwefelsäure verzichten musste, so suchte ich nach einer Methode, welche es mir ermöglichte, auch mit dieser Schwefelsäure die Reaction gut ausführen zu können. Ich stellte durch zahlreiche Versuche fest, dass man ohne Beeinträchtigung der Schärfe der Reaction eine bis zu einem gewissen (allerdings geringen) Grade verunreinigte Schwefelsäure benutzen kann, sofern man sich bei Beurtheilung der Reaction nicht an den Farbenring, sondern die Farbe des Reactionsgemisches hält. Zu diesen Versuchen nahm ich normalen Harn, welcher auf das 5fache seines Volums verdünnt war, und eine sehr reine Schwefelsäure, welche mit Salpetersäure in geringsten Spuren verunreinigt war. Die Verunreinigung mit Salpetersäure kann bis zu 0,00006% gehen, ohne dass die Empfindlichkeit der Reaction darunter leidet (vergleiche auch S. 57).

Bei den später beschriebenen Harnuntersuchungen verwandte ich die «reine conc. Schwefelsäure» des Laboratoriums und habe nie dadurch irgend welche Störungen in meinen Untersuchungen bekommen.

Stellt man die Reaction so an, dass man zu einem Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit 1 Tropfen der α -Naphthollösung, $\frac{1}{2}$ cbcm. Wasser und 2 cbcm. Schwefelsäure bringt, und schüttelt man dann kräftig um, so tritt eine ziemlich beträchtliche Erwärmung der Flüssigkeit ein. Dass diese Erwärmung zum Zustandekommen der Reaction noth-

wendig, heben schon Luther und Roos¹⁾ hervor. Ferner ist aber auch der Grad der Erwärmung von Einfluss auf die resultirende Mischfarbe. Ich konnte dies direct constatiren, indem sonst genau gleich behandelte Proben, im Wasserbad bei verschiedenen Temperaturen und verschieden lang erhitzt, nicht gleiche, sondern entsprechend dem Grad und der Dauer der Erwärmung verschiedene Mischfarben zeigten: es trat mehr und mehr die rothe Farbe hervor. Auch zeigte sich bei diesen Versuchen, dass die Grünfärbung, welche bei der Prüfung auf die Reinheit der Schwefelsäure, wie oben angegeben, nach dem Umschütteln des Gemisches auftrat, rascher beim Erhitzen der Probe im Wasserbad einer Gelbfärbung Platz machte, als es der Fall war, wenn man die Probe sich selbst überliess. Da also eine verschiedengradige Erwärmung, wie wir oben sahen, auch eine verschieden intensive Mischfarbe bedingt und andererseits der Grad der Erwärmung des Reactionsgemisches beim Schütteln abhängig ist von den Mengen des Wassers und der Schwefelsäure, welche auf einander einwirken, so ist es klar, dass man nur dann stets genau gleiche Mischfarben nach dem Umschütteln — *ceteris paribus* — haben wird, wenn die auf einander einwirkenden Quantitäten Wasser und Schwefelsäure stets die gleichen sind.

Was endlich das Lösungsmittel für das α -Naphthol, welches übrigens selbst rein sein muss²⁾, betrifft, so gab von Udránszky den mit Thierkohle behandelten absoluten Alkohol³⁾ dafür an. Luther⁴⁾ verliess denselben, weil auch der reine absolute Alkohol noch geringe Beimengungen enthalten könne, welche es bedingten, dass eine Lösung von α -Naphthol darin mit Schwefelsäure allein schon eine Furfurolreaction gäbe. Er wandte als Lösungsmittel Chloroform an. Das Chloroform

¹⁾ Luther, l. c. S. 12; Roos, l. c., S. 12.

²⁾ Ein solches Präparat aus der Fabrik von Bayer & Co., Elberfeld, stellte mir Herr Dr. Hinsberg gütigst zur Verfügung.

³⁾ Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XII., S. 366.

⁴⁾ L. c., S. 11.

hat aber, wie auch Posner und Epenstein¹⁾ hervorheben, den Nachtheil, dass es rasch verdunstet und sich in Folge dessen die Ausgussöffnungen des Tropfenzählers sehr bald durch das sich abscheidende α -Naphthol verstopfen; ferner — und das ist das Wichtigere — ist es ausserordentlich schwer, wegen der geringen Adhäsion des Chloroforms zum Glase, nur einen einzigen Tropfen in das Reagensglas fallen zu lassen. Sobald aber 2 oder 3 Tropfen α -Naphthol in dem Reaktionsgemisch enthalten sind, modificirt sich auch die Mischfarbe. Aus diesem letzteren Grunde benutze ich als Lösungsmittel den acetonefreien Methylalkohol²⁾, nachdem ich zuvor mittelst der von v. Udránszky gegebenen Vorschrift³⁾ constatirt hatte, dass derselbe keine Furfurolreaction gab. Ausserdem wurde in einer grossen Zahl von Harnproben normaler und faulender Harns der Kohlehydratgehalt sowohl mit der chloroform. α -Naphthollösung, als auch mit der Methylalkohollösung von α -Naphthol bestimmt, wobei ich stets zu übereinstimmenden Resultaten gelangte.

Fasse ich jetzt kurz noch einmal Alles zusammen, so ist zu sagen, dass man nur dann, aber dann auch stets genau gleiche oder zu Vergleichen geeignete Reaktionsproben erhält, wenn man folgende Vorschriften beachtet:

Alle zur Untersuchung eines Harns benutzten Gläser müssen absolut rein und trocken sein; insbesondere gilt dies von den Reagensgläsern. Die zur Verwendung kommenden Tropfenzähler müssen möglichst gleich grosse Tropfen liefern. Die Tropfen müssen auf den Boden des Reagensglases fallen. Es darf nicht ungefähr $\frac{1}{2}$ cbcm. destill. Wasser und 1 cbcm. Schwefelsäure zugesetzt werden, sondern stets genau $\frac{1}{2}$ cbcm. Wasser und 1 cbcm. Schwefelsäure. Man erreicht das am besten, wenn man auch diese Reagentien in Tropfenzählern aufbewahrt und jedesmal die vorher festgestellte, $\frac{1}{2}$ cbcm. Wasser, 1 cbcm. Schwefelsäure entsprechende Tropfenzahl

¹⁾ L. c., S. 4.

²⁾ Auch diesen verdanke ich der Güte des Herrn Dr. Hinsberg.

³⁾ Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XII, Heft 4, S. 356.

zur Probe fügt. Die Schwefelsäuretropfen lässt man bei schräger Haltung des Reagensglases auf die Wandung desselben fallen. Auf diese Weise lässt sich die bereits im Glase vorhandene geringe Flüssigkeitsmenge sehr gut unterschichten. Die zu Vergleichsproben benutzten Traubenzuckerlösungen¹⁾ müssen stets neutral reagiren und die von ihnen genommenen Proben müssen mit derselben Schwefelsäure hergestellt werden, welche zu den Harnproben benutzt wird. Die Proben der Traubenzuckerlösungen dürfen nicht noch am nächsten Tage als Vergleichsproben dienen, sondern sind vor jeder Untersuchung wieder zu erneuern. Endlich empfiehlt es sich, ehe man die Untersuchungsreihe beginnt, eine Controllprobe vorzunehmen, um zu constatiren, ob die Reagentien nicht an sich schon die Reaction geben: 1 Tropfen α -Naphthollösung + $\frac{1}{2}$ cbcm. destill. Wasser + 1 cbcm. Schwefelsäure werden in der beschriebenen Weise mit einander versetzt: es darf an der Schichtgrenze kein violetter Ring auftreten — tritt ein Ring auf, so darf er nur grüngelb oder gelb sein — und nach dem kräftigen Umschütteln darf die grüngelbe oder gelbe Farbe keinen röthlichen oder violetten Schimmer annehmen.

Bei allen Vorversuchen und auch bei den Harnuntersuchungen habe ich die spectroscopischen Erscheinungen ebenfalls stets berücksichtigt. Ich kann in Allem die von Luther darüber gemachten Angaben²⁾ bestätigen.

Als Grenzwert³⁾, bei welchem eine deutliche Reaction nach dem Umschütteln eintritt, so dass die Mischfarbe einen violetten oder röthlichen Schimmer erhält, ergab sich mir die 0,01% Traubenzuckerlösung.

¹⁾ Siehe auch S. 10.

²⁾ L. c., S. 7 u. 8.

³⁾ Als Grenzwert der Ringprobe, d. h. als diejenige geringstprocentige Traubenzuckerlösung, welche beim Anstellen der Probe noch einen deutlich violetten Ring liefert, geben v. Udránszky und Luther die 0,02% Traubenzuckerlösung an. Auch bei 0,01% Traubenzuckerlösung fand ich noch die Ringprobe: der Ring ist blasser und nicht so scharf abgegrenzt.

Will man den Kohlehydratgehalt eines Harns bestimmen, so stellt man sich zunächst von geeigneten Traubenzuckerlösungen (z. B. 0,1%, 0,06%, 0,05%, 0,03%, 0,02%, 0,01%) Proben her, indem man 1 Tropfen der Lösung mit 1 Tropfen α -Naphthollösung, so viel Tropfen dest. Wasser, als $\frac{1}{2}$ cbcm. Wasser, und so viel Tropfen Schwefelsäure, als 1 cbcm. Schwefelsäure entspricht, in der angegebenen Weise versetzt, das Erscheinen des violetten Ringes beobachtet und dann kräftig schüttelt. Sofort oder sehr bald treten die schön himbeerroth bis violetten Färbungen auf. — Auch bei der 0,01% Lösung überzeugt man sich leicht von der röthlichen oder blass violetten Mischfarbe, wenn man sie mit der oben angegebenen Controllprobe vergleicht. — Jetzt fertigt man sich genau in derselben Weise die einzelnen Harnproben an von dem Harn, den man dabei fortschreitend auf das 2-, 3- u. s. w. fache seines Volums verdünnt. Jede neue Harnprobe vergleicht man vor einem weissen Stück Papier mit der Farbenscala der Zuckerlösungsproben und setzt das Verdünnen des Harns so lange fort, bis man eine Harnprobe hat, deren Mischfarbe genau oder möglichst genau der Mischfarbe einer der Zuckerlösungsproben entspricht. Man hat nun den Procentgehalt dieser Lösung mit der Zahl zu multipliciren, welche angibt, auf das Wievielfache seines Volums der Harn verdünnt war, um den Procentgehalt des untersuchten Harns an Kohlehydraten¹⁾ — bezogen auf eine Traubenzuckerlösung — zu finden. Es soll hier ausdrücklich betont werden, dass, wenn im Folgenden z. B. gesagt wird: «Kohlehydratgehalt des Harns 0,1%», dies nur eine abgekürzte Bezeichnung sein kann. Genau genommen dürfte man nur sagen: «der Harn enthält eben so viel Furfurol liefernde Substanzen, als eine 0,1% Traubenzuckerlösung».

Dass der normale Menschenharn Kohlehydrate enthält, ist jetzt von den verschiedensten Untersuchern festgestellt.

¹⁾ Ausser den Kohlehydraten geben auch Eiweisssubstanzen, welche im Harn vorkommen können, die Furfurolreactionen. Aus eiweisshaltigem Harn ist das Eiweiss zunächst zu entfernen.

worden¹⁾: es schwankt nach von Udránszky²⁾ der Kohlehydratgehalt im frischen normalen Menschenharn zwischen 0,075% und 0,35%.

Wie sich dieser Kohlehydratgehalt des frischen Harns allmählig ändert beim Stehen und Faulen des Harns unter verschiedenen Bedingungen, das zu zeigen ist der Zweck nachfolgender Untersuchungen:

Es wurden zunächst mässig grosse Quantitäten Harn (4—6 und 8—10 Liter) gesammelt. Mehrere Harne wurden bei freiem Luftzutritt, mehrere bei Luftabschluss zum Faulen sich selbst überlassen. Vorher war von allen Harnen der Kohlehydratgehalt mit der Furfurolprobe, wie oben angegeben, bestimmt worden. Bei der jedesmaligen Untersuchung wurde eine gewisse Quantität Harn abfiltrirt und spezifisches Gewicht, Farbe und Reaction bestimmt.

Als Beispiel für die Methode mag hier eine Bestimmung ausführlich wiedergegeben werden.

Harn: Spec. Gew. (25° C.) 1016.

Farbe: rothgelb.

React.: schwach sauer.

Proben:

1. Harn unverdünnt: Ringprobe sehr deutlich. Mischfarbe etwas schwächer als 0,06‰. Absorptionsstreifen zwischen D und E, blasser und breiter als bei der 0,06‰ Zuckerlösungsprobe.
2. Harn auf das 2fache seines Volums verdünnt: Ringprobe deutlich. Mischfarbe und Absorptionsstreifen intensiver als 0,02‰.
3. Harn auf das 3fache seines Volums verdünnt: Ringprobe deutlich. Mischfarbe fast gleich 0,02‰, etwas schwächer. So auch Absorptionsstreifen.
4. Harn auf das 2,8fache seines Volums verdünnt: Ringprobe wie bei 3. Mischfarbe = 0,02‰. Ebenso Absorptionsstreifen.

¹⁾ Eine ausführliche Literaturangabe bezüglich der Frage, ob der normale Harn Zucker enthalte, findet sich z. B. in Dr. F. Moritz, Ueber die Kupferoxyd reducirenden Substanzen des Harns unter physiologischen und pathologischen Verhältnissen (D. Arch. f. klin. Med., Bd. XLVI, S. 333). Vergl. auch Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XII, Heft 5, S. 377—382.

²⁾ Ber. d. naturforsch. Ges. z. Freiburg i. B., Bd. IV, Heft 5, S. 18.

5. Harn auf das 5,4fache seines Volums verdünnt: Ringprobe nicht mehr deutlich. Mischfarbe eine Spur intensiver als 0,01^o/_o. Absorptionsstreifen wie bei 0,01^o/_o.
6. Harn auf das 5,6fache seines Volums verdünnt: Mischfarbe = 0,01^o/_o.
Mithin: $5,6 \times 0,01$ oder $2,8 \times 0,02 = 0,056$ ^o/_o¹⁾.

Harn I am 11. VI. zum Faulen hingestellt.

Harn II am 17. VI. zum Faulen hingestellt.

Harn III am 23. VI. zum Faulen hingestellt.

Harn IV am 26. VI. zum Faulen hingestellt.

Harn I und IV offen (freier Luftzutritt).

Harn II und III geschlossen (Luftabschluss).

Die Temperatur, bei welcher diese Harne faulen sollten, betrug durchschnittlich 20° C.; der Kohlehydratgehalt war vor Eintritt der Gährung bei allen nahezu derselbe, 0,1^o/_o. Die Harne waren sämtlich eiweissfrei.

Um zu sehen, ob das Abfiltriren vielleicht den mit der Furfurolprobe bestimmten Gehalt modificirte, wurden filtrirte und unfiltrirte Proben desselben Harns bestimmt. Das Resultat war in beiden Versuchsreihen das gleiche, auch stimmten die betreffenden Proben, unter sich verglichen, mit einander überein.

Ferner wurde nochmals constatirt, dass eine Schwefelsäure, welche so « unrein » war, dass der sich an der Schichtgrenze bildende schmutzig-grüne Ring die Beobachtung des über ihm befindlichen violetten Ringes beeinträchtigte, die Genauigkeit der Bestimmung in keiner Weise beeinflusst,

¹⁾ Wenn ich hier und im Folgenden die Zahlen auf die 3. Decimalstelle angebe, so bin ich mir sehr wohl bewusst, dass ihnen nach dem Wesen der ganzen Methode nicht der Werth der Genauigkeit beigemessen werden darf, den man sonst wohl Zahlenangaben beizulegen geneigt ist. Es soll dadurch nur zu einem gewissen sichtbaren Ausdruck gebracht sein, wie ausserordentlich fein die einzelnen Mischfarben bezüglich der Intensität ihrer Färbung von dem Auge noch unterschieden werden und wie genau sich also die Schüttelproben mit einander vergleichen lassen. Im obigen Beispiel konnte so die um $\cdot 2_{10}$ geringere Verdünnung des Harns, von welchem doch nur 1 Tropfen verwandt wird, noch deutlich an der Intensität der Mischfarben erkannt werden.

wenn man sich an die Mischfarben hält; vorausgesetzt, dass auch die zum Vergleiche bestimmten Zuckerlösungsproben mit derselben « unreinen » Schwefelsäure hergestellt werden.

Harn I: Spec. Gew. (20° C.): 1014.

Farbe: goldgelb, seit dem 17. VI. weinmostfarben (milchig gelb).

React.: schwach sauer.

Harn II: Spec. Gew. (20° C.): 1016.

Farbe: rothgelb.

React.: sauer.

Kohlehydratgehalt:

	17. VI.	18. VI.	19. VI.	20. VI.	22. VI.	23. VI.	25. VI.
Harn I . . .	0,05 ‰	0,03 ‰	0,03 ‰	0,03 ‰	0,034 ‰	0,034 ‰	0,03 ‰
Harn II . . .	0,1 ‰	0,06 ‰	0,056 ‰	0,056 ‰	0,056 ‰	0,056 ‰	0,056 ‰

Harn III: 23. VI.: Spec. Gew. (20° C.): 1018.

Farbe: goldgelb.

React.: sauer.

Kohlehydratgehalt: 0,1 ‰.

25. VI.: Dasselbe.

Da der Kohlehydratgehalt der Harne I und II nicht mehr abzunehmen schien, so würde die Benzoylirung dieser Harne vorgenommen und zwar so, dass je 10 ccm. Harn, aus dem durch Natronlauge die Phosphate entfernt waren, mit 10 ccm. 10% Natronlauge und 1 bis 2 ccm. Benzoylchlorid versetzt und so lange geschüttelt werden — unter Abkühlung des Gemisches —, bis der Geruch nach Benzoylchlorid verschwunden war. Zum Vergleiche werden auch Harn III und IV benzoylirt, von denen Harn IV (bei einem spec. Gew. von 1017, goldgelber Farbe und saurer Reaction) einen Kohlehydratgehalt von 0,06 ‰ hatte. Die Mengen der bei der Benzoylirung dieser 4 Harne ausfallenden Ester gingen den Resultaten parallel, welche die Furfuroreaction ergeben hatte.

Filtrirte man den erhaltenen Niederschlag des Estergemenges ab und prüfte Filtrat und Niederschlag getrennt auf die Furfuroreaction, so gab wohl das Filtrat auch noch eine Reaction — entsprechend der Thatsache, dass nicht die

gesamte Kohlehydratmenge in Ester beim einmaligen Benzoyliren übergeführt wird¹⁾. Diese Furfurolreaction des Filtrates blieb aber stets erheblich viel schwächer als die intensive Reaction, welche der Niederschlag lieferte. Mit dem Filtrat, welches alkalisch reagiren soll, nimmt man die Reaction in der gewöhnlichen Weise vor; bei Prüfung des Niederschlags, der tüchtig vorher ausgewaschen wird, empfiehlt es sich, zu einem Körnchen des getrockneten oder zu einem Tropfen des mit Wasser geschlemmten Niederschlags zunächst 1 cbcm. Schwefelsäure zu fügen. Die Ester lösen sich beim Umschütteln in der Schwefelsäure auf; jetzt erst setze man 1 Tropfen α -Naphthollösung und $\frac{1}{2}$ cbcm. dest. Wasser in der gewohnten Weise zu und schüttele kräftig um. — Es gelang selbst bei wiederholter Benzoylirung des Filtrates nicht, alle Kohlehydrate als Ester zu fällen; wenigstens gab auch nach wiederholter Benzoylirung einer beträchtlichen Harnmenge das Filtrat stets noch eine, allerdings sehr schwache Furfurolreaction. Prüfte man ein solches Filtrat, nachdem es ungefähr 14 Tage sich selbst überlassen gestanden hatte, nochmals auf die Reaction, so fiel sie vollkommen negativ aus.

Bei stark faulenden, d. h. alkalischen Harnen, entsteht, wenn man sie nicht vorher mit Wasser verdünnt, bei der Benzoylirung ein reichlicher Niederschlag von Benzamid, welches als solches an den glänzenden Krystallen erkannt werden kann, die bei 129° schmelzen und unzersetzt sublimiren — (wenn es in Folge von Verunreinigungen sich in Form von gelb-weissen Kügelchen abscheidet, so wird es durch Umkrystallisiren aus heissem Wasser leicht rein erhalten). — Dieselbe Beobachtung machte auch Roos²⁾ an frischen Thier-(Hunde-) Harnen, welche reichlich Ammoniak enthalten.

In der Folge wurde stets die Benzoylirung neben der Furfurolreaction ausgeführt; da, wie bereits erwähnt, die dabei gewonnenen Resultate einander parallel gingen, so soll die Benzoylirung nicht stets wieder ausdrücklich bemerkt werden. Dagegen ist hier vielleicht der Ort, noch einer Versuchsreihe

¹⁾ E. Roos, l. c., S. 15.

²⁾ L. c., S. 27.

Erwähnung zu thun. An der Hand zahlreicher Harnproben habe ich mir nämlich ein Urtheil darüber zu bilden gesucht, ob sich wohl die Benzoylirung der Harne zu einer praktischen quantitativen Zuckerbestimmungsmethode eignete. Ein Harn von saurer Reaction, dessen Kohlehydratgehalt mit der Furfurolreaction auf 0,12% berechnet war, wurde, wie oben zugegeben, benzoylirt. Alle Proben lieferten dasselbe Resultat. Es wurden dann von diesem Harn künstliche Zuckerharne mit bekanntem Traubenzuckergehalt hergestellt und benzoylirt, wobei die Zuckermengen der Reagentien variirten. Es ergab sich zunächst, dass man nur dann annähernd gleiche resp. entsprechende Resultate erzielt, wenn ein genaues und zwar für alle Proben dasselbe Verhältniss von Natronlauge zu Benzoylchlorid festgehalten wird¹⁾ und zwar dürfte für die Probe im Reagensglas am zweckentsprechendsten sein:

- 10 cbem. Harn (von den Phosphaten befr.),
- + 10 cbem. 10% Natronlauge,
- + 1 cbem. Benzoylchlorid.

Aber auch dann entstehen noch Schwierigkeiten in der Beurtheilung der Menge des Niederschlags. Denn derselbe senkt sich nicht etwa, wie das Eiweiss bei der Esbach'schen Eiweissbestimmung, allmählig ganz zu Boden, so dass man an der Höhe der Niederschlagssäule einen Anhaltspunkt für die Berechnung des Procentgehaltes gewinnen könnte. In Folge der Klebrigkeit der einzelnen Partikelchen haftet nämlich ein Theil der Abscheidung an den Wandungen des Reagensglases, andere Theilchen schwimmen auf der Oberfläche oder bleiben sehr lange in der Flüssigkeit suspendirt und sinkt nur ein Bruchtheil zu Boden. Diesen Uebelstand zu beseitigen, ist mir auf keine Weise gelungen. Ich nahm daher vorläufig von weiteren derartigen Versuchen Abstand.

Sehen wir nun wieder zu, wie sich im weiteren Verlauf die 4 Harne verhielten. Der Uebersicht halber nehme ich den auf Seite 58 zusammengestellten Kohlehydratgehalt der Harne I und II noch einmal in die folgenden Tabellen mit auf:

¹⁾ Wie auch Wedenski (Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XIII, S. 120) ausdrücklich betont.

Harn I.

Ursprünglicher Kohlehydratgehalt: 0,1%, fault bei gewöhnlicher Temperatur: offen.

	Kohlehydrat- gehalt.	Bemerkungen.	Specificsches Gewicht.	Farbe.	Reaction.
Nach 6 Tagen	0,05%	—	1014 (20° C.)	trüb bernstein- gelb	schwach sauer
» 7 »	0,03%	—	—	—	—
» 8 »	0,03%	—	—	—	—
» 9 »	0,03%	—	—	—	—
» 11 »	0,034%	—	—	—	—
» 12 »	0,034%	—	—	—	—
» 14 »	0,03%	—	—	—	—
» 15 »	0,02%	—	1014 (20° C.)	trüb bernstein- gelb	neutral
» 18 »	0,02%	—	1012 (27° C.)	trüb bernstein- gelb	alkalisch
» 23 »	0,016%	—	1012 (27° C.)	ebenso	alkalisch
» 31 »	0,01—0,02%	Genauere Bestimmung nicht mehr möglich	1014 (21° C.)	trüb bernstein- gelb	alkalisch
» 37 »	0,01—0,02%	Grenze der Ringprobe bei Ver- dünnung auf das 2fache des Harn- volums	1014 (21° C.)	ebenso	alkalisch
» 44 »	0,01—0,02%	—	1017	ebenso	alkalisch

Harn II.

Ursprünglicher Kohlehydratgehalt: 0,1%, fault bei gewöhnlicher Temperatur: geschlossen.

	Kohlehydrat- gehalt.	Bemerkungen.	Specifisches Gewicht.	Farbe.	Reaction.
Nach 2 Tagen	0,06%	—	1016 (20° C.)	rothgelb	sauer
» 3 »	0,056%	—	1016 (20° C.)	rothgelb	sauer.
» 4 »	0,056%	—	—	—	—
» 6 »	0,056%	—	—	—	—
» 7 »	0,056%	—	—	—	—
» 9 »	0,05%	—	1016 (20° C.)	rothgelb	sauer
» 12 »	0,046%	—	1016 (20° C.)	goldgelb	sauer
» 16 »	0,045%	—	1015	goldgelb	sauer
» 24 »	0,06%	—	1016	goldgelb	schwach sauer
» 30 »	0,06%	Grenzd. Ringprobe b. e. Verdünn. d. Harns auf das 6fache s. Vol.	1016	goldgelb	schwach sauer
» 37 »	0,09%	—	1016 (20° C.)	strohgelb	schwach sauer
» 43 »	0,06%	Grenze d. Ringprobe b. e. Verdünn. d. Harns auf das 6fache s. Vol.	1016	strohgelb	schwach sauer
» 47 »	0,05%	—	1016 (20° C.)	trüb bernstein- gelb	neutral

Harn III. Ursprünglicher Kohlehydratgehalt: 0,1%, fault bei gewöhnlicher Temperatur: geschlossen.

	Kohlehydrat- gehalt.	Bemerkungen.	Spezifisches Gewicht.	Farbe.	Reaction.
Nach 4 Tagen	0,07%	Fällt in d. Zeit v. 26.-30. VI., in denen die Tagestemp. bis 30° C. stieg	1018 (20° C.)	goldgelb	sauer
» 7 »	0,048%	—	1018	goldgelb	sauer
» 10 »	0,048%	—	1018	goldgelb	sauer
» 21 »	0,09%	—	1018	grünlich gelb	schwach sauer
» 24 »	0,045%	Grenze d. Ringprobe b. e. Verdünn. d. Harns auf das 5fache s. Vol.	1018	trüb bernstein- gelb	neutral
» 31 »	0,04%	Grenze d. Ringprobe bei e. Verdünnung auf d. 4fache d. Harnvol.	1020 (20° C.)	trüb bernstein- gelb	alkalisch

Harn IV. Ursprünglicher Kohlehydratgehalt: 0,06%, fault bei gewöhnlicher Temperatur: offen.

Nach 1 Tag	0,06%	—	1017 (20° C.)	goldgelb	sauer
» 4 Tagen	0,05%	—	1016	goldgelb	schwach sauer
» 8 »	0,1%	Zu dem hohen Kohlehydratgehalt vergl. das in nachfolg. Text Gesagte	1017 (20° C.)	goldgelb	schwach sauer
» 18 »	0,045%	Grenze d. Ringprobe b. e. Verdünn. d. Harns auf d. 5fache s. Vol.	1018	trüb bernstein- gelb	alkalisch
» 21 »	0,045%	Grenze der Ringprobe bei e. Verdünnung auf d. 5fache d. Harnvol.	1018	trüb bernstein- gelb	alkalisch
» 30 »	0,02%	Grenze der Ringprobe bei e. Verdünnung auf d. 5fache d. Harnvol.	1019 (21° C.)	trüb bernstein- gelb	alkalisch

Uebersichten wir diese Tabellen, so ergibt sich zunächst die Thatsache, dass der Kohlehydratgehalt verhältnissmässig sehr langsam abnimmt und dass diese Abnahme selbst bei langem Stehen resp. Faulen eines Harns nie eine ganz vollständige wird; wenigstens ist stets noch eine Furfurolreaction vorhanden. Auch Salkowski¹⁾ weist, wie Eingangs bemerkt, darauf hin, dass die Zersetzung der Kohlehydrate im faulenden Harn keine vollständige zu sein scheine, findet aber²⁾, dass der in ammoniakalische Gährung übergegangene, sich selbst überlassene faulende Harn keine Furfurolreaction mehr gibt, wenn man die Prüfung mit 1 bis 2 Tropfen Harn vornimmt.

Trotzdem liefere solcher Harn nicht weniger Humin-substanzen als der frische und gebe beim Erhitzen mit Schwefelsäure die Schiff'sche Furfurolreaction³⁾ noch in ausgeprägter Weise: beides Erscheinungen, welche nach v. Udránszky auf die Anwesenheit von Kohlehydraten zu beziehen seien. — Ob diese einander widersprechenden Resultate durch die Art der Ausführung der in vielen Beziehungen subtilen Furfurolreaction mit α -Naphthol und Schwefelsäure bedingt wurden, wage ich nicht zu entscheiden.

Ganz auffallend erscheint die Beobachtung, dass in einem Harn, welcher bis dahin eine regelmässige Abnahme der Kohlehydrate hatte erkennen lassen, mit einem Mal ein steigender, ja fast so hoher Kohlehydratgehalt gefunden wird, wie zu Anfang der ganzen Untersuchung: so bei Harn IV, III und II. Als ich es bei Harn IV zum ersten Mal constatirte, glaubte ich zunächst, das sonderbare Ergebniss auf einen Fehler in der Untersuchungsmethode beziehen zu müssen. Es wurden alle Reagentien — auch das Wasser, mit welchem der Harn verdünnt worden war — auf ihre Reinheit, die Zuckerlösungen

¹⁾ L. c., S. 271.

²⁾ L. c., S. 270.

³⁾ Schiff'sche Furfurolreaction mit Xylidinacetat: Herstellung des Reagenspapierses. s. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XII, Heft 5, S. 378 und 388. Methode der Reaction: *ibid.*, S. 382.

auf ihre Genauigkeit geprüft: es ergab sich stets wieder dasselbe Resultat.

Der Harn, welcher sonst unter den gleichen Bedingungen gestanden, zeigte keine Besonderheit in Farbe und Reaction. Da er aber einige Stunden vor der Untersuchung geschüttelt worden war, so dass die fast 1 cm. dicke Bodensatzschicht aufgewirbelt und die Partikelchen des Bodensatzes gleichmässig im Gesammtharn zur Zeit der Prüfung vertheilt gewesen waren, so lag es nahe, den Bodensatz einmal bezüglich seines Verhaltens bei der Furfurolreaction zu untersuchen. Da fand sich denn bei allen Harnen das bemerkenswerthe Ergebniss, dass thatsächlich der Bodensatz eine viel intensivere Furfurolreaction lieferte, als der sorgfältig filtrirte Harn. Um aber, soweit als möglich, Alles andere auszuschliessen, was etwa noch zu der Steigerung des Kohlehydratgehaltes beigetragen haben könnte, wurde auch noch festgestellt, dass beim Digeriren des zum Filtriren benutzten Filtrirpapieres mit Ammoniumcarbonat keine Substanzen mit in das Filtrat übergehen, welche eine Furfurolreaction geben. Wenn es also der Bodensatz allein war, der die Erhöhung des Kohlehydratgehaltes bewirkt hatte, so entsteht zunächst die Frage: welche Substanz in dem Bodensatz kann eine Furfurolreaction geben? Der Bodensatz eines eiweissfreien Harns, der lange Zeit sich selbst überlassen steht, wird vorwiegend von den ausgefallenen Erdphosphaten gebildet und den gleichzeitig mit niedergedrissenen Bacterien. Gerade die Letzteren sind hier in Massen vorhanden und ist daher wohl die Annahme zulässig, dass wir es hier mit Producten der Bacterien zu thun haben, welche eine Furfurolreaction liefern (Eiweisssubstanzen, Cellulose?). Diese Annahme entbehrt freilich vorläufig einer erschöpfenden Begründung: denn die Zahl meiner Beobachtungen ist viel zu gering, auch die Art der angewandten Methode zu wenig einwurfsfrei, als für eine sichere Beweisführung erforderlich wäre.

Aus den Tabellen ersehen wir ferner, dass die Harnen, welche bei Luftzutritt standen (Harn I und IV), rascher gefäult sind als die anderen. Der Harn, welcher verschlossen

stand (Harn II), reagierte selbst nach 5 Wochen noch sauer (und erst in diesen letzten Tagen, wo die vorliegenden Untersuchungen abgeschlossen werden mussten, trat bei ihm eine neutrale Reaction ein). Bezüglich des Harnes III, welcher ebenfalls bei Luftabschluss gehalten wurde und doch — scheinbar im Widerspruch zum vorigen — vom 14.—17. VII., also in 3 Tagen, eine intensive Gährung einging (Umschlag der Reaction, Veränderung der Farbe, Abnahme des Kohlehydratgehaltes), sei erwähnt, dass er am 14. VII. eine kurze Zeit offen gestanden hatte. Thatsächlich genügt eine verhältnissmässig kurze Zeit, während welcher Luft und mit ihr zahlreiche Keime zu einem bis dahin geschlossenen Harn gelangen, um eine intensive Gährung anzuregen. So änderte eine Probe von Harn II — 150 ccm. in einem weiten Messgefäss bei einer durchschnittlichen Temperatur von 22° C. offen hingestellt — innerhalb 30 Stunden Farbe und Reaction. Die rothgelbe Farbe ging dabei in die opakbernsteingelbe über, wie ich sie bei all' den faulenden Harnen beobachtete, die Reaction wurde alkalisch und der Kohlehydratgehalt sank von 0,06% auf 0,03%.

Endlich sei noch eine Versuchsreihe erwähnt, bei welcher der vom Luftzutritt abgeschlossene Harn dauernd einer Temperatur von 35° C. ausgesetzt war¹⁾. Die Ergebnisse der einzelnen Prüfungen seien hier kurz angeführt:

Harn V (eiweissfrei).

	Kohlehydratgehalt
3. VII.: Spec. Gew. (corr.): 1028	
Farbe: rothgelb, Filtrat mässig getrübt	}
Reaction: sauer	
4. u. 5. VII.: Reaction: alkalisch; sonst wie am 3. VII.	. . . 0,06%
6. VII.: wie am 4. VII. 0,04%
7. VII.: wie seither 0,03%
8. VII.: » 0,03%
9. VII.: » 0,03%
11. VII.: Spec. Gew. (corr.): 1032; sonst wie seither	. . . 0,034%

¹⁾ Herr Prof. Dr. Schottelius hatte die Güte, mir die Benutzung eines Brütovens im hygienischen Institut zu gestatten, wofür ich ihm an dieser Stelle meinen aufrichtigsten Dank sage.

Harn V (eiweissfrei).

	Kohlehydratgehalt:
13. VII.: Spec. Gew. (corr.): 1032	0.03 ₁₀
13. VII. bis 22. VII.: stets das gleiche Resultat.	
25. VII.: Spec. Gew. (corr.): 1032	
Farbe: rothgelb, Filtrat mässig trüb }	0.02 ₁₀
Reaction: stark alkalisch	

Danach scheint also die höhere Temperatur von Einfluss auf Intensität und Dauer der Gährung zu sein und den Eintritt zu beschleunigen¹⁾).

Wenn ich hiermit diese Untersuchungen abschliesse, so möchte ich noch einmal betonen, dass ich die Furfuroreaction mit α -Naphthol und Schwefelsäure bei Zucker- und normalen Harnen als eine gute Probe habe schätzen lernen, wenn es gilt, rasch eine Vorstellung von dem ungefähren Procentgehalt eines Harnes an Kohlehydraten zu gewinnen. Wohl ist man damit auch im Stande, sich rasch über den jeweiligen Kohlehydratgehalt eines in Gährung begriffenen Harnes Aufschluss zu verschaffen. Nur muss man sich in diesem letzteren Falle stets bewusst bleiben, dass eine Methode, welcher eine so empfindliche Reaction zu Grunde liegt, gerade darin einen gewissen Nachtheil hat, dass sich — selbst bei peinlichster Beachtung aller Vorschriften — Fehlerquellen nicht absolut ausschliessen lassen.

¹⁾ Vergl. Salkowski, l. c., S. 265.