

# Über die Bestimmung kleiner Zuckermengen im Harn.

Von

S. Nagasaki.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Universität Utrecht.)

(Der Redaktion zugegangen am 10. Juli 1915.)

Bekanntlich enthält jeder menschliche Harn mehrere Kohlenhydrate, Glukose, einen wahrscheinlich zu den Disacchariden gehörenden, von Baisch und von Lemaire als Isomaltose betrachteten Zucker und eine dextrinartige Substanz. Daneben kommen dann noch mit Kohlenhydraten sehr nahe verwandte Glukuronsäureverbindungen vor. Die so oft vorkommende pathologische Zunahme des Glukosegehaltes macht es wünschenswert, auch geringe Schwankungen im normalen Gehalt feststellen zu können. Der Grund, daß es bis jetzt noch nicht gelungen ist, die Zuckermenge im normalen Harn einigermaßen genau zu bestimmen, liegt in der Anwesenheit von anderen Stoffen, welche gewisse Eigenschaften, reduzierende Kraft, optische Aktivität, mit der Glukose gemeinschaftlich haben und deshalb, wenn diese Eigenschaften für die Bestimmung gebraucht werden sollen, einen bei kleinen Zuckermengen schwer ins Gewicht fallenden störenden Einfluß haben. Die Eigenschaft, von Hefe gespalten zu werden, und dabei Alkohol und Kohlensäure zu liefern, ist zwar charakteristisch für Zucker, die Menge der dabei aus normalem Harn freiwerdenden Spaltungsprodukte ist aber so gering, daß eine einwandfreie Messung davon nicht wohl ausführbar ist.

Lemaire hat zur Bestimmung des Gehaltes des Harns an Glukose, an Isomaltose, bei Wöchnerinnen auch an Lactose, diese Zucker mittels Benzoylchlorids von den anderen Harnbestandteilen getrennt. Die Zucker wurden, aus den Benzoyl-

estern freigemacht, in Wasser gelöst. Nach der Pavyschen Methode wurde dann die reduzierende Kraft dieser Lösung bestimmt. Jetzt wurde die Lösung mit Preßhefe, welche Glukose angreift, Isomaltose und Milchzucker aber nicht, behandelt. Die Verringerung der reduzierenden Kraft zeigte dann den Glukosegehalt und, wenn Milchzucker nicht anwesend war, auch den Isomaltosegehalt an. Enthielt die Lösung auch Lactose, so wurde die Menge davon durch die Abnahme der reduzierenden Kraft nach Vergärung mit *Saccharomyces Kefir* bestimmt. Lemaire selbst aber hob hervor, daß in dieser Weise nur annähernde Werte erhalten werden konnten, weil die Möglichkeit, daß bei der Bereitung der Benzoyl ester Zucker verloren gegangen war, nicht ausgeschlossen werden konnte. Außerdem hat es sich herausgestellt, daß die Bestimmung der reduzierenden Kraft nach der Pavyschen Methode nicht so zuverlässig ist als für diesen Zweck gewünscht wäre.

Auch andere Forscher, insbesondere Moritz, haben die reduzierende Kraft des Harnes, vor und nach der Vergärung mit Hefe, bestimmt und daraus auf den Zuckergehalt des Harns geschlossen.<sup>1)</sup>

Es ist aber nicht wohl möglich, beim Gebrauch der gewöhnlichen Handelshefe zuverlässige Aufschlüsse über den Zuckergehalt des normalen Harns zu erhalten. Diese Hefe enthält ja nicht nur mehrere *Saccharomyces*arten und *Torula*arten, sondern ist auch immer wohl von Bakterien verunreinigt, so daß die reduzierende Kraft des Harns in jedesmal anderer, unberechenbarer Weise abnehmen kann. Es ist deshalb für die Bestimmung des Glukosegehaltes wünschenswert, eine reine Hefeart, welche ausschließlich diesen Zucker aus dem Harn entfernt, zu verwenden.

Ich hatte Gelegenheit, mit einer solchen Hefe Versuche anzustellen, und zwar mit dem von Kluyver aus Bierhefe isolierten, von ihm *Torula monosa* genannten Organismus, welcher nur Monosen und also auch Glukose angreift.<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Für die Literatur erlaube ich mir zu verweisen nach: F. N. Schultz, Neubauer-Huppert, Harnanalyse, 11. Auflage, 1. Hälfte.

<sup>2)</sup> A. J. Kluyver, Biochemische suikerbepalingen, Leiden, 1914.

Herr Dr. Kluyver hatte die Güte, Herrn Prof. Pekelharing eine Kultur dieser *Torula* zur Verfügung zu stellen. Dieselbe läßt sich auf einem in folgender Weise bereiteten Agarboden leicht fortzüchten: Agar 2 g, Malz 5 g, Glukose 5 g auf 100 ccm Wasser.

Kluyver hat für die Bestimmung verschiedener Zuckerarten mittels dieser und anderer Hefen die bei der Gärung entwickelte Kohlensäure gebraucht. Der äußerst geringe Glukosegehalt des normalen Harns macht aber diese Methode für meinen Zweck nicht gut brauchbar. Ich habe deshalb die reduzierende Kraft des Harns vor und nach der Gärung bestimmt und daraus die von der Hefe verbrauchte Zuckermenge abgeleitet.

Zur Bestimmung der reduzierenden Kraft habe ich zuerst die Bangsche Methode angewandt. Diese Methode erfordert aber beträchtliche Mengen Rhodansalz, mehr als in dieser Zeit erhalten werden konnten. So kam ich zur Methode von S. R. Benedict,<sup>1)</sup> welche viel weniger Rhodan in Anspruch nimmt und ebenso gute Ergebnisse liefert als die Bangsche. Wenn nur die Kupferlösung, unter Zusatz vom Harn, in lebhaftem Kochen gehalten wird und die letzten Harntropfen nicht zu schnell zugesetzt werden, erlaubt die von Benedict angegebene Methode die Bestimmung der totalen reduzierenden Kraft des Harnes, welche nicht nur von Zucker, sondern auch von Kreatinin, Harnsäure, Glukuronsäureverbindungen, Urochrom, und vielleicht noch von anderen Stoffen abhängig ist, sehr gut. Ist dann der Zucker vergoren, so ist aus der Verringerung der reduzierenden Kraft der Monosengehalt, wie aus den folgenden Beobachtungen hervorgehen wird, mit befriedigender Genauigkeit zu bestimmen.

Die von Benedict empfohlene Lösung ist folgenderweise zusammengesetzt; 18 g krystallisiertes Kupfersulfat, 100 g wasserfreies Natriumcarbonat, 200 g Natrium- oder Kaliumcitrat, 125 g Kaliumsulfocyanat und 5 ccm einer 0,5%igen Lösung von Ferrocyankalium in 1 l destilliertem Wasser. Statt des Tartrat der Fehlingschen Lösung hat Benedict das Citrat

<sup>1)</sup> Benedict, Journ. of Biol. chem. Vol. III, p. 101, Vol. IX, p. 57 und V. C. Myers, Münch. med. Wochenschr., 1912, Nr. 27.

zugesetzt, weil beim Gebrauch derselben die Lösung lange Zeit haltbar bleibt.

Der von Benedict hervorgehobene Vorteil seiner Lösung, daß dieselbe den qualitativen Nachweis kleiner Zuckermengen im Harn ermöglicht, wegen der geringen, von den anderen reduzierenden Harnbestandteilen verursachten Reduktion, kommt für unseren Zweck nicht in Betracht. Die Mitwirkung dieser Bestandteile kann niemals völlig ausgeschaltet werden. Es ist deshalb am besten die Reduktion, durch längeres Kochen, möglichst vollständig zu machen.

Ich führte die Bestimmung folgenderweise aus.

Zunächst wurde ein Vorversuch angestellt. Eine genau abgemessene Menge der Kupferlösung, gewöhnlich 10 ccm, wurde in einem, etwa 200 ccm fassenden Kolben auf dem Drahtnetz, nach Zusatz von etwa 5 g Natriumcarbonat und ein wenig Talkum, zum Sieden erhitzt. Dann wurde 10 ccm Harn aus der Bürette schnell hinzugegeben und 3 Minuten erhitzt. War dann der blaue Farbenton völlig verschwunden, was bei konzentriertem Harn nicht selten der Fall war, so wurde der Harn mit dem gleichen Volum Wasser verdünnt und nochmals titriert. War die Farbe noch bläulich, so wurde, in Zwischenräumen von 1 Minute, unter anhaltendem Kochen, je nachdem mehr Blau vorhanden war, mehr Harn, zuletzt tropfenweise, hinzugesetzt, bis die allmählich schmutzig grün werdende Farbe eben vollständig verschwunden, die Reduktion also beendet war.

Nachdem in dieser Weise die Reduktionskraft des Harns annäherungsweise bestimmt war, wurde zu einer neuen Portion von 10 ccm der Kupferlösung beinahe soviel Harn als im Vorversuch gebraucht worden war, auf einmal hinzugesetzt und, nach 5 Minuten Kochen, jede Minute, unter anhaltendem Kochen, vorsichtig kleine Mengen, bis der Endpunkt erreicht war. Die totale Reduktionskraft des Harns kann dann in Glukose ausgedrückt werden. Zur Reduktion von 10 ccm Kupferlösung sind 20 mg Glukose nötig. Sind also zur Reduktion dieser Kupfermenge z. B. 10 ccm Harn verbraucht worden, so sind darin so viel reduzierende Stoffe enthalten, als 20 mg Glukose oder 0,2 % entspricht.

Die ganze Bestimmung, Vorversuch und Hauptversuch zusammen, nimmt, bei einiger Übung, nicht mehr als 10 bis 15 Minuten in Anspruch.

Zur Bestimmung des wahren Glukosegehaltes wurde eine abgemessene Menge des untersuchten Harns, gewöhnlich 100 ccm, in einem sterilisierten Kolben unter Watteverschluß 10 Minuten lang gekocht, nach Abkühlung mit einer ziemlich großen Platinaöse einer Agarkultur von *Torula monosa* geimpft und 24 Stunden bei etwa 30° C. vergoren. Dann wurde die Flüssigkeit genau bis auf das ursprüngliche Volum mit Wasser angefüllt, filtriert und wieder mit der Benedictschen Kupferlösung titriert. Die Abnahme des Reduktionsvermögens gibt dann den Glukosegehalt an.

Nur bei schon in alkalische Gärung geratenem Harn waren die Resultate unzuverlässig, auch wenn die Reaktion, mittels Essigsäure, schwach sauer gemacht worden war. Solcher Harn wird durch Kochen während 10 Minuten nicht vollständig sterilisiert, so daß die Wirkung der *Torula* von Bakterien beeinträchtigt wird.

Bei frischem Harn aber waren die Ergebnisse völlig befriedigend, wie aus den folgenden Kontrollversuchen hervorgeht:

## I. Harn.

Spez. Gewicht 1022. Reaktion sauer.

10 ccm Kupferlösung verbrauchen 10,6 ccm Harn, also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,189‰.

Von diesem Harn je 65 ccm vermischt mit		Berechnet
a) 35,0 ccm Wasser und	0 ccm 0,2‰iger Glukoselösung	0,123‰
b) 9,0 „ „ „	26,0 „ 0,2‰iger „	0,175‰
c) 22,0 „ „ „	13,0 „ 0,2‰iger „	0,149‰.

	Vor der Gärung			Nach der Gärung			
	10 ccm Kupferlösung gebrauchen ccm Harn	Reduktion in Glukose ‰	Fehler ‰	10 ccm Kupferlösung gebrauchen ccm Harn	Reduktion in Glukose ‰	Zugesetzt mg	Gefunden mg
a	16,0	0,125	+ 0,002	17,3	0,116	0	7
b	11,3	0,177	+ 0,002	17,4	0,115	52	60
c	13,65	0,147	- 0,002	17,35	0,115	26	34

## II. Harn.

Spez. Gewicht 1021. Reaktion sauer.

10 ccm Kupferlösung verbrauchen 11,8 ccm Harn, also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,170%.

Von diesem Harn je 68 ccm vermischt mit

				Berechnet
a)	32,0 ccm Wasser und	0 ccm	0,265% iger Glukoselösung	0,116%
b)	0,4 „ „ „	31,6 „	0,265% iger „	0,200%
c)	20,0 „ „ „	12,0 „	0,265% iger „	0,148%.

	Vor der Gärung			Nach der Gärung			
	10 ccm Kupferlösung gebrauchen ccm Harn	Reduktion in Glukose %	Fehler %	10 ccm Kupferlösung gebrauchen ccm Harn	Reduktion in Glukose %	Glukose auf 100 ccm Zugesetzt mg	Ge-funden mg
a	16,7	0,120	+ 0,004	18,2	0,110	0	6
b	10,25	0,195	- 0,005	18,15	0,110	84	90
c	13,5	0,148	0	18,3	0,109	32	39

## III. Harn.

Spez. Gewicht 1027. Reaktion stark sauer.

20 ccm Kupferlösung verbrauchen 15,5 ccm Harn, also Reduktionsvermögen also Glukose berechnet 0,258%.

Von diesem Harn je 67 ccm vermischt mit

				Berechnet
a)	33,0 ccm Wasser und	0 ccm	0,265% iger Glukoselösung	0,173 %
b)	2,0 „ „ „	31,0 „	0,265% iger „	0,255 %
c)	22,0 „ „ „	11,0 „	0,265% iger „	0,202 %.

	Vor der Gärung			Nach der Gärung			
	20 ccm Kupferlösung gebrauchen ccm Harn	Reduktion in Glukose %	Fehler %	20 ccm Kupferlösung gebrauchen ccm Harn	Reduktion in Glukose %	Glukose auf 100 ccm Zugesetzt mg	Ge-funden mg
a	22,4	0,179	+ 0,006	24,5	0,163	0	10
b	15,5	0,258	+ 0,003	24,4	0,164	82	91
c	19,5	0,205	+ 0,003	24,5	0,163	29	39

## IV. Harn.

Spez. Gewicht 1017. Reaktion sauer.

10 ccm Kupferlösung verbrauchen 15,6 ccm Harn, also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,128%.

Von diesem Harn je 60 ccm vermischt mit

					Berechnet
a)	40,0 ccm Wasser und 0 ccm	0,265 % iger	Glukoselösung		0,077 %
b)	32,5 „ „ „ 7,5 „	0,265 % iger	„		0,097 %
c)	32,5 „ „ „ 7,5 „	0,265 % iger	„		0,097 %

	Vor der Gärung			Nach der Gärung			
	10 ccm Kupferlösung gebrauchen ccm Harn	Reduktion in Glukose %	Fehler %	10 ccm Kupferlösung gebrauchen ccm Harn	Reduktion in Glukose %	Glukose auf 100 ccm Zugesetzt mg	Gefunden mg
a	26,2	0,076	— 0,001	27,7	0,073	0	4
b	20,8	0,096	— 0,001	27,8	0,072	20	25
c	20,7	0,097	0	27,8	0,072	20	25

#### V. Harn.

Spez. Gewicht 1016. Reaktion sauer.

10 ccm Kupferlösung verbrauchen 16,4 ccm Harn, also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,122 %.

Von diesem Harn je 90 ccm vermischt mit

					Berechnet
a)	10,0 ccm Wasser und 0 ccm	0,265 % iger	Glukoselösung		0,110 %
b)	10,0 „ „ „ 0 „	0,265 % iger	„		0,110 %
c)	1,5 „ „ „ 8,5 „	0,265 % iger	„		0,133 %

	Vor der Gärung			Nach der Gärung			
	10 ccm Kupferlösung gebrauchen ccm Harn	Reduktion in Glukose %	Fehler %	10 ccm Kupferlösung gebrauchen ccm Harn	Reduktion in Glukose %	Glukose auf 100 ccm Zugesetzt mg	Gefunden mg
a	19,0	0,105	— 0,005	19,3	0,104	0	6
b	17,1	0,117	+ 0,007	19,15	0,104	0	6
c	14,8	0,136	+ 0,003	19,2	0,104	23	29

#### VI. Harn.

Spez. Gewicht 1014. Reaktion sauer.

10 ccm Kupferlösung verbrauchen 13,8 ccm Harn, also reduzierende Substanzen als Glukose berechnet 0,145 %.

Von diesem Harn je 70 ccm vermischt mit

					Berechnet
a)	30,0 ccm Wasser und	0 ccm	0,2 % iger	Glukoselösung	0,101 %
b)	25,0 „	5 „	0,2 % iger	„	0,111 %
c)	20,0 „	10 „	0,2 % iger	„	0,121 %
d)	0 „	39 „	0,2 % iger	„	0,161 %

	Vor der Gärung			Nach der Gärung			
	10 ccm Kupferlösung gebrauchen ccm Harn	Reduktion in Glukose %	Fehler %	10 ccm Kupferlösung gebrauchen ccm Harn	Reduktion in Glukose %	Glukose auf 100 ccm Zugesetzt mg	Gefunden mg
a	19,8	0,101	0	21,2	0,094	0	7
b	17,7	0,113	+ 0,002	21,25	0,094	10	17
c	16,0	0,125	+ 0,004	21,1	0,095	20	26
d	12,2	0,164	+ 0,003	21,2	0,094	60	67

Die zugesetzte Torulamenge, gewöhnlich eine ziemlich große Platinaöse einer Malzagarkultur, wächst im durch Kochen sterilisierten Harn gut und ist imstande viel mehr Zucker zu vergären wie der Harn in den vorigen Versuchen, auch nach Glukosezusatz, enthielt. Zum Beweis teile ich die folgenden Versuche mit.

Nachdem das totale Reduktionsvermögen eines normalen Harnes bestimmt war, wurde ein Teil des gut sterilisierten Harnes mit der Hefe geimpft und 24 Stunden auf 30° C. erwärmt, indem ein anderer Teil nach Zusatz einer gewogenen Menge von Glukose titriert und zur Gärung gebracht wurde.

Harn. Spez. Gewicht 1023. Reaktion sauer.

Vor der Gärung. 10 ccm Kupferlösung verbrauchen 16,0 ccm Harn, also reduzierende Substanzen als Glukose berechnet 0,125 %.

Nach der Gärung. 10 ccm Kupferlösung verbrauchen 17,8 ccm Harn, also reduzierende Substanzen als Glukose berechnet 0,112 %.

Vergorene Glukose 0,013 %.

100 ccm Harn + 0,25 g Glukose.

Vor der Gärung. Berechnetes Reduktionsvermögen 0,375 %

20 ccm verbrauchten 10,7 ccm Harn,

also reduzierende Substanzen als Glukose berechnet 0,374 %.

Nach der Gärung. 10 ccm Kupferlösung verbrauchen 17,8 ccm Harn, also reduzierende Substanzen als Glukose berechnet 0,112 %.

Vergorene Glukose 0,374 — 0,112 = 0,262 %.

Gefunden 0,262 — 0,013 = 0,249 statt 0,25 g Glukose.

Harn. Spez. Gewicht 1018. Reaktion sauer.

Vor der Gärung. 10 ccm Kupferlösung verbrauchen 26,0 ccm Harn,  
also reduzierende Substanzen als Glukose berechnet 0,077 %.

Nach der Gärung. 10 ccm Kupferlösung verbrauchen 28,7 ccm Harn,  
also reduzierende Substanzen als Glukose berechnet 0,070 %.

Vergorene Glukose  $0,077 - 0,070 = 0,007$  %.

100 ccm Harn + 0,5 g Glukose.

Vor der Gärung. Berechnetes Reduktionsvermögen 0,577 %.

40 ccm Kupferlösung verbrauchen 14,0 ccm Harn,  
also reduzierende Substanzen als Glukose berechnet 0,572 %.

Nach der Gärung. 10 ccm Kupferlösung verbrauchen 27,3 ccm Harn,  
also reduzierende Substanzen als Glukose berechnet 0,073 %.

Vergorene Glukose  $0,572 - 0,073 = 0,499$  %.

Gefunden  $0,499 - 0,007 = 0,492$  g statt 0,5 g Glukose.

Harn. Spez. Gewicht 1017. Reaktion sauer.

Vor der Gärung. 10 ccm Kupferlösung verbrauchen 23,0 ccm Harn,  
also reduzierende Substanzen als Glukose berechnet 0,087 %.

Nach der Gärung. 10 ccm Kupferlösung verbrauchen 26,2 ccm Harn,  
also reduzierende Substanzen als Glukose berechnet 0,076 %.

Vergorene Glukose  $0,087 - 0,076 = 0,011$  %.

100 ccm Harn + 0,5 g Glukose.

Vor der Gärung. Berechnetes Reduktionsvermögen 0,587 %.

40 ccm Kupferlösung verbrauchen 13,8 ccm Harn,  
also reduzierende Substanzen als Glukose berechnet 0,580 %.

Nach der Gärung. 10 ccm Kupferlösung verbrauchen 22,7 ccm Harn,  
also reduzierende Substanzen als Glukose berechnet 0,088 %.

Vergorene Glukose  $0,580 - 0,088 = 0,492$ .

Gefunden  $0,492 - 0,011 = 0,481$  g statt 0,5 g Glukose.

Der Grad von Genauigkeit der Titriermethode und die Gärungsfähigkeit der Hefe sind, wie aus den Tabellen hervorgeht, sicher genügend für meinen Zweck.

Wie Kluyver gefunden hat, werden von dieser Torula nur Monosen angegriffen. Deshalb ist diese Hefeart auch zur Glukosebestimmung anzuwenden, wenn der Harn, wie bei Wöchnerinnen, Milchzucker, oder, wie nach der Aufnahme größerer Rohrzuckermenge, diese Biose enthält.

Daß Zusatz von Milchzucker oder Rohrzucker die Genauigkeit nicht beeinträchtigt, geht aus den folgenden Versuchen hervor.

Harn. Spez. Gewicht 1023. Reaktion ziemlich stark sauer.

Vor der Gärung. 20 ccm Kupferlösung verbrauchen 18,0 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,222 %.

Nach der Gärung. 20 ccm Kupferlösung verbrauchen 21,0 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,191 ‰.

Vergorene Glukose  $0,222 - 0,191 = 0,031$  ‰.

100 ccm Harn + 0,1 g Milchzucker.

Vor der Gärung. Berechnetes Reduktionsvermögen als Glukose berechnet  
0,297 ‰.

20 ccm Kupferlösung verbrauchen 13,6 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,295 ‰.

Nach der Gärung. 20 ccm Kupferlösung verbrauchen 15,15 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,264 ‰.

Vergorene Glukose  $0,295 - 0,264 = 0,031$  ‰.

Harn. Spez. Gewicht 1021. Reaktion sauer.

Vor der Gärung. 10 ccm Kupferlösung verbrauchen 12,2 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,164 ‰.

Nach der Gärung. 10 ccm Kupferlösung verbrauchen 13,0 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,154 ‰.

Vergorene Glukose  $0,164 - 0,154 = 0,010$  ‰.

75 ccm Harn + 0,1 g Milchzucker.

Vor der Gärung. Berechnetes Reduktionsvermögen als Glukose berechnet  
0,264 ‰.

20 ccm Kupferlösung verbrauchen 15,2 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,263 ‰.

Nach der Gärung. 20 ccm Kupferlösung verbrauchen 15,8 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,253 ‰.

Vergorene Glukose  $0,263 - 0,253 = 0,010$  ‰.

Harn. Spez. Gewicht 1030. Reaktion sauer.

Vor der Gärung. 20 ccm Kupferlösung verbrauchen 12,1 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,331 ‰.

Nach der Gärung. 20 ccm Kupferlösung verbrauchen 12,9 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,310 ‰.

Vergorene Glukose  $0,331 - 0,310 = 0,021$  ‰.

100 ccm Harn + 0,01 g Rohrzucker.

Vor der Gärung. 20 ccm Kupferlösung verbrauchen 12,1 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,331 ‰.

Nach der Gärung I. 20 ccm Kupferlösung verbrauchen 12,9 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,310 ‰.

Nach der Gärung II. 20 ccm Kupferlösung verbrauchen 12,85 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,311 ‰.

Vergorene Glukose  $0,331 - 0,310 = 0,021$  ‰

oder  $0,331 - 0,311 = 0,020$  ‰.

Harn. Spez. Gewicht 1024. Reaktion sauer.

Vor der Gärung. 20 ccm Kupferlösung verbrauchen 15,3 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,261 ‰.

Nach der Gärung. 20 ccm Kupferlösung verbrauchen 18,2 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,220 ‰.  
Vergorene Glukose  $0,261 - 0,220 = 0,041$  ‰.

75 ccm Harn + 0,1 g Rohrzucker.

Vor der Gärung. 20 ccm Kupferlösung verbrauchen 15,25 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,262 ‰.

Nach der Gärung I. 20 ccm Kupferlösung verbrauchen 18,1 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,221 ‰.

Nach der Gärung II. 20 ccm Kupferlösung verbrauchen 18,2 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,220 ‰.

Vergorene Glukose  $0,262 - 0,221 = 0,041$  ‰

oder  $0,262 - 0,220 = 0,042$  ‰.

Harn. Spez. Gewicht 1012. Reaktion sauer.

Vor der Gärung. 10 ccm Kupferlösung verbrauchen 23,1 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,087 ‰.

Nach der Gärung. 10 ccm Kupferlösung verbrauchen 24,7 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,081 ‰.

Vergorene Glukose  $0,087 - 0,081 = 0,006$  ‰.

100 ccm Harn + 0,15 g Rohrzucker.

Vor der Gärung. 10 ccm Kupferlösung verbrauchen 23,25 ccm Harn.  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,086 ‰.

Nach der Gärung. 10 ccm Kupferlösung verbrauchen 24,9 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,080 ‰.

Vergorene Glukose  $0,086 - 0,080 = 0,006$  ‰.

100 ccm Harn + 0,3 g Rohrzucker.

Vor der Gärung. 10 ccm Kupferlösung verbrauchen 23,2 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,086 ‰.

Nach der Gärung. 10 ccm Kupferlösung verbrauchen 24,8 ccm Harn,  
also Reduktionsvermögen als Glukose berechnet 0,081 ‰.

Vergorene Glukose  $0,086 - 0,081 = 0,005$  ‰.

Normaler menschlicher Harn enthält neben Glukose noch einen anderen Zucker, welcher von Baisch und von Lemaire als Isomaltose betrachtet worden ist und dessen Osazon, nach der von Lemaire ausgeführten Bestimmung, den einer Biose entsprechenden N-Gehalt besitzt. In Übereinstimmung mit dieser Auffassung fand ich, daß dieser Zucker von *Torula monosa* nicht vergoren wird. Wenn aber der Harn, vor oder nach der Gärung der Glukose, in der von Pavy für die Rohrzuckerinversion empfohlenen Weise,<sup>1)</sup> mit Citronensäure zu einem

<sup>1)</sup> Pavy, The physiology of the carbohydrates. London 1894, p. 74.

Gehalt von 2% versetzt und dann 7 Minuten gekocht wird, entsteht Zucker, welcher von *Torula monosa* angegriffen wird. Da der Gehalt des Harns an «Isomaltose» nur äußerst gering ist, habe ich die Natur des bei der Hydrolyse freiwerdenden Zuckers nicht untersuchen können. Es wäre dafür nötig, aus einer großen Harnmenge mittels Benzoylchlorid und Natronlauge bereitete Kohlenhydratester mit Natriumäthylat zu zerlegen, und dann die Isomaltose nach Vergärung der Glukose zu isolieren. Wohl aber habe ich mit meiner Methode den Gehalt des Harns an «Isomaltose» nach Inversion, als Glukose berechnet, bestimmen können. Durch Kochen mit 2%iger Citronensäure während 7 Minuten wird das Harndextrin nicht merkbar angegriffen. Wird der Harn, nach Kochen mit Citronensäure und Vergärung mit *Torula monosa*, 10 Minuten mit Salzsäure gekocht, wie das bei der Cammidgeschen Reaktion gebräuchlich ist, so nimmt das Reduktionsvermögen wieder zu und können, falls diese Zunahme nicht zu klein ist, mit Phenylhydrazin die Cammidgeschen Krystalle erhalten werden.

Ich gebe hier einige Beispiele. Zuerst wurde der Harn, einmal unverändert, A, dann nach Vergären mit *Torula monosa*, B, nach Benedict titriert. Die Differenz, A—B, ergab den Glukosegehalt. Dann wurde der vergorene Harn mit Citronensäure gekocht, titriert, C, mit *Torula* vergoren und wieder titriert, D. C—D gibt also den Gehalt an Isomaltose, als Glukose berechnet. Ein Teil des vergorenen Harnes, B, wurde nach Zusatz von Salzsäure, zu 1% HCl, 10 Minuten auf dem Sandbad gekocht und titriert, E. Jetzt ist nicht nur die Isomaltose, sondern auch das Dextrin hydrolysiert worden. Wie Pekelharing und Van Hoogenhuyze fanden,<sup>1)</sup> wird aber in der Weise aus dem Harndextrin Zucker gebildet, dessen Osazon einen nicht mit demjenigen eines Monosazons übereinstimmenden N-Gehalt besitzt. Es dürfte also erwartet werden, daß nach Vergärung des mit Salzsäure gekochten Harnes, durch die Titration, F, wieder der Gehalt an Isomaltose gefunden werden sollte. Diese Erwartung wurde tatsächlich bestätigt, wie aus der folgenden

<sup>1)</sup> Pekelharing und Van Hoogenhuyze, Diese Zeitschrift, Bd. 91, S. 151.

Tabelle hervorgeht. Alle Zahlen geben die Reduktion an in Prozenten Glukose ausgedrückt.

Tabelle.

	A	B	C	D	E	F	A—B Glukose	E—B Iso- maltose + Dex- trin	C—D Iso- maltose	E—F Iso- maltose
I.	0,091	0,078	0,092	0,085	0,101	0,093	0,013	0,023	0,007	0,008
II.	0,089	0,081	0,098	0,089	0,109	0,100	0,008	0,028	0,009	0,009
III.	0,076	0,068	0,085	0,077	0,094	0,086	0,008	0,026	0,008	0,008
IV.	0,123	0,109	0,132	0,118	0,138	0,124	0,014	0,029	0,014	0,014
V.	0,112	0,105	0,118	0,110	0,129	0,121	0,007	0,024	0,008	0,008
VI.	0,091	0,078	0,094	0,087	0,103	0,097	0,013	0,025	0,007	0,006

Die Übereinstimmung der Befunde in bezug auf den Isomaltosegehalt bei der Bestimmung einerseits in dem nur mit Citronensäure gekochten, andererseits in dem mit Salzsäure gekochten Harn, zeigt wohl die Zuverlässigkeit der Methode.

Auch ist aus der Differenz von Isomaltose + Dextrin und Isomaltose der Dextringehalt, als Glukose berechnet, abzuleiten.

In einigen Fällen habe ich die drei Kohlenhydrate in der Weise bestimmt, daß die Vergärung nach dem Kochen mit Salzsäure unterlassen wurde. So erhielt ich folgende Zahlen, welche die der Reduktion entsprechenden Glukosemenge auf 100 ccm Harn angeben.

I.	Vor Gärung	0,252	} Glukose 0,017	Zitronensäure	0,250	} Isomaltose 0,012	HCl 0,248	Dextrin 0,019
	Nach „	0,235		Nach Gärung	0,238			
II.	Vor Gärung	0,270	} Glukose 0,033	Zitronensäure	0,248	} Isomaltose 0,011	HCl 0,247	Dextrin 0,010
	Nach „	0,237		Nach Gärung	0,237			
III.	Vor Gärung	0,184	} Glukose 0,019	Zitronensäure	0,175	} Isomaltose 0,010	HCl 0,173	Dextrin 0,008
	Nach „	0,165		Nach Gärung	0,165			
IV.	Vor Gärung	0,231	} Glukose 0,017	Zitronensäure	0,221	} Isomaltose 0,008	HCl 0,217	Dextrin 0,004
	Nach „	0,214		Nach Gärung	0,213			

Der Nachweis einer alimentären Glukosurie beim normalen Menschen war bis jetzt nur möglich, durch die Zufuhr von so großen Kohlenhydratmengen, daß der Organismus förmlich mit

Zucker überschwemmt wurde. Die hier beschriebene Methode erlaubt aber einen viel feineren Nachweis.

Ich habe bei einigen gesunden, meistens jungen Personen, Studenten, Laboranten, Laboratoriumsbeamten, den Harn vor und nach der Einnahme von 25, 50, einmal 100 g Glukose untersucht und öfters eine deutliche Vermehrung des Harnzuckers nach der Glukosezufuhr feststellen können. Der Harn der Versuchspersonen war gewöhnlich schon früher aus anderen Gründen von mir untersucht worden und normal befunden.

Die Versuche wurden so angestellt, daß der von 8 bis 12 Uhr morgens ausgeschiedene Harn gewöhnlich mit dem am folgenden Tage in derselben Periode, nachdem um 8 Uhr Glukose in 100 ccm Wasser aufgenommen war, gesammelten Harn verglichen wurde. In einigen Fällen fand die Glukoseaufnahme um 12 Uhr statt und wurde der von 12 bis 4 Uhr am selben Tage ausgeschiedene Harn untersucht. Die Wahl der Nahrung wurde den Versuchspersonen freigelassen, unter der Bedingung, daß dieselbe während des Versuchs nicht geändert wurde.

Erstens wurde der Gehalt an Glukose bestimmt, zweitens der Gehalt an mittels Kochen des vergorenen Harns mit Citronensäure aus Isomaltose entstandener Monose. Die Ergebnisse gehen aus folgender Tabelle hervor:

Tabelle.

Versuchsnummer	Glukose aufgenommen g	Harnmenge ccm	Glukose		Monose nach Kochen mit Citronensäure	
			%	total g	%	total g
I.	25	340	0,006	0,020	0,006	0,020
		386	0,009	0,035	0,006	0,023
II.	25	244	0,011	0,026	0,015	0,037
		434	0,009	0,039	0,007	0,030
III.	25	150	0,009	0,014	0,015	0,023
		243	0,012	0,029	0,008	0,019

(Fortsetzung.)

Versuchs- nummer	Glukose aufge- nommen g	Harn- menge ccm	Glukose		Monose nach Kochen mit Citronensäure	
			%	total g	%	total g
IV.	25	100	0,011	0,011	0,016	0,016
		188	0,014	0,026	0,018	0,034
V.	25	194	0,010	0,019	0,016	0,031
		206	0,014	0,029	0,020	0,041
VI.	25	345	0,007	0,024	0,007	0,024
		148	0,018	0,027	0,024	0,036
VII.	25	353	0,006	0,021	0,006	0,021
		485	0,005	0,024	0,008	0,039
VIII.	25	118	0,014	0,017	0,014	0,017
		204	0,021	0,043	0,012	0,024
IX.	25	198	0,054	0,107	0,008	0,016
		230 <sup>1)</sup>	0,156	0,359	0,021	0,048
X.	50	190	0,015	0,029	0,012	0,023
		150	0,020	0,032	0,017	0,026
XI.	50	595	0,003	0,018	0,003	0,018
		170	0,020	0,034	0,013	0,026
XII.	50	275	0,008	0,022	0,006	0,017
		150	0,020	0,030	0,012	0,018
XIII.	50	146	0,027	0,039	0,012	0,018
		550	0,014	0,077	0,006	0,033
XIV.	50	250	0,019	0,048	0,008	0,020
		260	0,028	0,073	0,009	0,023
XV.	50	150 <sup>1)</sup>	0,041	0,060	0,018	0,027
		345	0,026	0,090	0,009	0,031
XVI.	50	290	0,013	0,038	0,006	0,017
		710	0,006	0,043	0,003	0,021
XVII.	100	170	0,012	0,020	0,009	0,015
		365	0,016	0,058	0,009	0,033

1) Nylandersche Probe fiel schwach positiv aus.

In allen Fällen wurde, auch wenn nur 25 g Glukose aufgenommen war, die Glukoseausscheidung erhöht gefunden, wenn auch, infolge erhöhter Diurese, der Glukosegehalt bisweilen kleiner war. Die Vermehrung war aber so unbedeutend, auch nach der Aufnahme von 50 und, in Nr. 17, sogar nach der Aufnahme von 100 g Glukose, daß dieselbe mit der bis jetzt gebräuchlichen Methode nicht sicher nachgewiesen werden könnte. Auch die Ausscheidung von Isomaltose hatte, mit Ausschluß von Fall Nr. 2 und 3, obgleich öfters so wenig, daß die Differenz innerhalb der Fehlergrenzen fällt, zugenommen.

Nur im Fall Nr. 9, wo der Harn einen ungewöhnlich hohen Glukosegehalt zeigte (0,054%), obwohl der Harn vor der Zuckeraufnahme mit Nylanders Probe keinen positiven Ausschlag gab, zeigte sich eine nicht ganz unbedeutende Vermehrung, nicht nur der Glukose —, sondern auch der Isomaltoseausscheidung.

Der Fall Nr. 9 betraf einen übrigens gesunden Mann, der eine abnorm geringe Toleranz für Kohlenhydrate besaß, dessen Harn nur bei einer ziemlich kohlenhydratarmen Nahrung sich, mit den in der Klinik üblichen Methoden untersucht, «zuckerfrei» erwies. An 7 Tagen, im Verlauf von 2 Monaten, habe ich den Harn dieses Mannes, bei einer Diät, welche nicht genau geregelt war, wo aber stets Mäßigkeit im Gebrauch von Kohlenhydraten betrachtet wurde, mit dieser Methode untersucht. Viermal (Nr. 1, 2, 3 und 4) wurde der von 8 Uhr vormittags bis 5 oder 1 Uhr am selben Tage ausgeschiedene Harn untersucht, die anderen dreimal (Nr. 5, 6 und 7) der in 24 Stunden gesammelte Harn.

In Nr. 4, 5 und 6 wurde auch der Gehalt an Isomaltose in dem erst vergorenen, dann mit Salzsäure gekochten Harn mittels *Torula monosa* bestimmt. Die in der Weise erhaltenen Zahlen folgen in der nebenstehenden Tabelle.

Bei völlig gesunden Personen habe ich, ohne Rücksicht auf die Nahrung oder auf die Tageszeit, in welcher der Harn gelassen wurde, zu nehmen, in 174 Fällen den Glukosegehalt, in 84 Fällen auch den Isomaltosegehalt bestimmt. Ich fand:

Glukose	im Mittel	0,012 %	(Max. 0,033 %,	Min. 0,002 %)
Isomaltose	»	»	0,012 % (	» 0,023 %, » 0,003 %).

Tabelle.

	Harnmenge ccm	Glukose		Isomaltose	
		%	total g	%	total g
I.	400 ( 9 Stunden)	0,042	0,168	—	—
II.	440 ( 9 » )	0,066	0,290	—	—
III.	210 ( 5 » )	0,047	0,099	—	—
IV.	250 ( 5 » )	0,049	0,123	0,023	0,058
V.	1140 (24 » )	0,036	0,410	0,015	0,171
VI.	1330 (24 » )	0,026	0,346	0,028	0,372
VII.	1500 (24 » )	0,030	0,450	—	—

Es scheint mir, daß die Methode auch in der Klinik mit Vorteil zu verwenden sein wird. Sie ermöglicht eine viel genauere Beurteilung des Einflusses der Diät bei Glukosurie und eine bessere Entscheidung in zweifelhaften Fällen von Diabetes, als mit den bis jetzt gebräuchlichen Methoden von Zuckerbestimmung im Harne erreicht werden kann. Nur ist darauf zu achten, daß beim Titrieren mit der Benedictschen Kupferlösung die angegebenen Vorsichtsmaßregeln nicht ohne Nachteil für die Zuverlässigkeit der Bestimmung vernachlässigt werden können.