

# Die Bestimmung der Eigenreduktion und der Dextrose im Urin mit alkalischer Glycerinkupferlösung.

Von

H. Ruoss (Ludwigsburg-Stuttgart).

(Der Redaktion zugegangen am 24. Oktober 1917.)

Die Bestimmung der Dextrose im Urin mit alkalischer Kupferlösung fällt ungenau aus:

1. da das Ende des Titrierens sich nicht scharf feststellen läßt;
2. da neben der Dextrose das Kreatin, Kreatinin, die Harnsäure und die Glykuronsäureverbindungen die Kupferlösung reduzieren.<sup>1)</sup>

Während bei urinfreien Zuckerlösungen das Ende des Titrierens durch ein kupferfreies Filtrat gekennzeichnet ist und damit durch Ansäuern und Versetzen mit Ferrocyankalium scharf bestimmbar wird, erhält man bei urinhaltigen Zuckerlösungen im allgemeinen kein kupferfreies Filtrat.<sup>2)</sup> Die entstehenden Cuproverbindungen scheiden sich eben nicht mehr vollständig in unlöslicher Form aus und können nicht mehr durch Filtrieren von der Flüssigkeit getrennt werden; auch geht die Entfärbung der Fehlingschen Lösung nicht mehr so vor sich, daß das Blau der Flüssigkeit verschwindet, vielmehr geht das Blau in Grün, Gelb, Orange, Rot über, und man muß sich mit einer großer Subjektivität Raum gebenden Schätzung begnügen, um den Übergang der grünen Farbe in die gelbe feststellen zu können.

<sup>1)</sup> Neubauer-Huppert, Harnanalyse, S. 302, 658, 664, 1027, Bd. I (1913).

<sup>2)</sup> Soxhlet, Journ. f. prakt. Chem., N. F., Bd. 21; Lassar-Cohn, Praxis der Harn-Analyse, 4. Aufl., S. 57 u. 87 (1909).

Aus diesem Grunde erfordert die Urinuntersuchung auf Zucker mancherlei Übung, ohne die nur zu leicht Trugschlüsse vorkommen; so sagt Lassar-Cohn: Es ist außerordentlich schwierig, den Endpunkt der Reaktion im Harn zu erkennen. Mit voller Sicherheit vermögen es eigentlich nur die, welche sich andauernd mit Zuckertitrieren nach dieser Methode beschäftigen.

Daß übrigens der Endpunkt der Reaktion nicht genau feststellbar ist, bestätigen W. Müller (Pflügers Archiv Bd. 33, S. 211—213) und Salkowski (Diese Zeitschr., Bd. 17, S. 237).

Ich werde nun im folgenden zeigen:

1. wie das von mir in der Zeitschrift für analytische Chemie 1917 veröffentlichte Titrierverfahren sich beträchtlich vereinfachen läßt durch Einführung einer alkalischen Glycerinkupferlösung und durch Verwendung von immer gleich großen Volumen Harnflüssigkeit statt gleicher Volumen Kupferlösung beim Titrieren und daß damit mit aller Schärfe und in sehr kurzer Zeit die Eigenreduktion und die Dextrose des Harns von Ungeübten bestimmt werden kann;

2. wie Eigenreduktion und spezifisches Gewicht der Urine mathematisch zusammenhängen.

Der zweite Teil unserer Abhandlung beschäftigt sich mit der Entfernung der N-Substanzen nach der Patein-Dufau-Methode.<sup>1)</sup> Es wird hier gezeigt, daß auf das Pflüger-Bohlandsche Tastverfahren<sup>2)</sup> zur Bestimmung der zur Fällung der N-Substanzen notwendigen Merkurinitratmenge ganz verzichtet werden kann, indem man eine weit stärkere Merkurilösung benützt als Patein-Dufau; daß auch das fortwährende Prüfen mit Lackmuspapier nach dem tropfenweisen Zusatz von NaOH wegfallen kann. Eine besondere Vereinfachung gegenüber dem von Schöndorff<sup>3)</sup> angewandten Verfahren glaube ich dadurch erreicht zu haben, daß das stundenlange Aus-

<sup>1)</sup> Journ. de pharmacie et chimie, 6. Serie, Bd. 15, S. 221 (1902) und Bd. 17, S. 5 (1903).

<sup>2)</sup> Pflügers Archiv, Bd. 38, S. 573.

<sup>3)</sup> Pflügers Archiv, Bd. 121, S. 593 (1908).

waschen des Rückstandes, und daß das ein bis zwei Tage erfordernde Einengen des Filtrates<sup>1)</sup> unterbleiben kann, wenn man durch mathematische Betrachtung das Volumen des Rückstandes (Paste) bestimmt.

Die Fehling-Soxhletsche Methode benützt als Maß für den Zucker diejenige Menge Urin, welche z. B. 10 ccm Fehling zu reduzieren imstande ist; ist diese Menge 5 ccm resp. 500 ccm, so enthält der Urin 1% resp. 0,01% Zucker, wenn 1 ccm Fehling 5 mg Zucker anzeigt. Die gemessenen ccm und die gesuchten Prozente stehen also im umgekehrten Verhältnis, ein für Messungen ungutes Verhältnis; dazu tritt noch, daß die Fehlingsche Lösung und nach Soxhlet auch die alkalische Seignettelösung sich schon nach 24 Stunden zersetzen, also stets frisch hergestellt werden müssen.

Ich benütze folgende 3 Lösungen A, B, C, zu deren öfterer Herstellung man am einfachsten verwendet:

a) Natronlauge: 1 Teil Natrium hydricum purum alc. dep. + 2 Teile Wasser (D 1,357).

Kleine, braune Flocken, die sich am Boden absetzen, rühren von unvermeidlichen Verunreinigungen her.

b) Salzlösung: 1 Teil Natrium chloratum puriss. + 3 Teile Wasser.

Die Lösung erfolgt durch häufiges Schütteln in der Kälte oder durch 2 Minuten langes Kochen.

c) Kaliumsulfocyanatlösung: 30 g KCyS in 100 ccm. Die hieraus hergestellten Flüssigkeiten sind:

A. 3,464 g  $\text{CuSO} \cdot 5 \text{ aq.}$  + 15 ccm Glycerin + 10 g NaOH + 1,5 g KCyS + ca. 15 g NaCl in 100 ccm.

Herstellung: 3,464 g Kupfersulfat werden in einen 100 ccm-Kolben gebracht und durch Zusatz von ca. 10 ccm Wasser unter Erwärmen gelöst, sodann **vollständig** abgekühlt. Nun fügt man 15 ccm Glycerin (bidestillatum puriss.) und dann 22 ccm der Natronlauge a zu. Man kühlt ab und setzt 5 ccm von c bei; schließlich füllt man mit b auf 100 ccm auf.

<sup>1)</sup> Unser Filtrat enthält den Urin in der Verdünnung 1 Vol. = 2 Vol. Zum Nachweis von 0,01% und mehr ist in dem stickstofffreien Filtrat ein Einengen nicht mehr erforderlich.

Es ist ganz wesentlich, daß die Bestandteile der Lösung kalt gemischt werden; würde man die 2 ersten kochen, so erhielte man eine äußerst leicht zersetzbare Lösung A, die nach wenigen Tagen rotes  $\text{Cu}_2\text{O}$  ausscheiden würde. Flocken am Boden der alkalischen Kupferlösung sind kein Zeichen von Zersetzung. Durch Glaswolle filtriert und ausgewaschen, besitzen sie schmutzig gelbe Farbe und sind identisch mit den Flocken, die sich in jeder Natronlauge finden, mag sie chemisch rein sein oder nicht.

B. Acidum aceticum dilutum mit NaCl.

Zu 100 ccm offiz. Essigsäure (D 1,041) fügt man ca. 10 g NaCl und löst durch Schütteln. Die Lösung kommt in ein Tropfenglas und wird gut verschlossen, damit sie an Stärke nicht durch Verriechen verliert.

C. Ferrocyaniumlösung: 100 ccm Wasser + ca. 5 g Ferrocyanium. Die im folgenden angegebenen Tropfen von B können beliebig vermehrt werden, sie müssen eben hinreichen, um das Kupferoxydul zu lösen. Auch die Tropfen von C dürfen beliebig vermehrt werden.

Die Lösung A ist haltbar, sie scheidet kein ziegelrotes  $\text{Cu}_2\text{O}$  aus; auch enthält sie keine löslichen Cuproverbindungen: denn 1 Vol. derselben + 1 Vol. Wasser + 2 Vol. B. gibt bei einer frischbereiteten Lösung nach dem Verschwinden der Luft- und Kohlensäurebläschen eine klare Flüssigkeit, bei einer 1 Jahr alten, vor Licht geschützten Lösung, eine kaum wahrnehmbare Trübung, die das Titrieren mit der alten Lösung nicht beeinträchtigt.

Das NaCl bei A und B dient zum Lösen des  $\text{Cu}_2\text{O}$  in Essigsäure, das  $\text{KC}_y\text{S}$  in A zur Überführung des gelösten  $\text{Cu}_2\text{O}$  in weißes  $\text{Cu}_y\text{S}$ . Von Wichtigkeit für das Titrieren ist der Nachweis kleiner Mengen von Cupriionen, den folgender Versuch veranschaulicht.

Verdünnt man A, so daß 1 Vol. = 500 Vol. oder 1000 Vol., so sind in dieser Verdünnung die Cupriionen nicht mehr an ihrer blauen Farbe zu erkennen. Man nimmt von dieser Lösung 10 ccm und setzt 3 Tropfen Glycerin und 3 Tropfen offiz. Natronlauge (D 1,17) zu — diese 2 Zusätze nur, damit durch

3 Minuten langes Kochen keine Ausscheidung von Kupferoxyd erfolgt —. Die Mischung säuert man mit einigen Tropfen Essigsäure B an und gibt einen Tropfen von C hinzu. Jetzt erhält man eine rosarote Färbung, von gleicher Stärke, wie wenn man die Mischung zuvor kocht, dann ansäuert und abkühlt und nunmehr einen Tropfen C hinzufügt. Das Abkühlen — etwa 15sekundenlanges oder längeres Einstellen in kaltes Wasser — hat den Zweck, die Zersetzung des Ferrocyankaliums in der siedend heißen Flüssigkeit zu verhindern, eine Zersetzung, die sich durch blaue Färbung offenbaren würde.

Die rotbraune Färbung ist auch dann von gleicher Stärke, wenn man nach dem Ansäuern aufkocht. Die etwaige Bildung von  $\text{Cu}(\text{CyS})_2$  spielt also gar keine Rolle.

Man sieht daraus, daß unser Nachweis der Cupriionen weit schärfer ist als derjenige von Bang und Benedict (Bang, Biochem. Zeitschrift Bd. 11, S. 538 (1908); diese Zeitschrift, Bd. 63, S. 443 (1909); Benedict, Journal of Biol. Chem., Bd. III S. 101, Bd. IX S. 57).

Diese nehmen an, daß mit dem Verschwinden der blauen Farbe auch die Cupriionen verschwunden sind.

### Urine mit 1 bis 0,1% Zucker.

Diese brauchen zur Bestimmung des Zuckers nicht verdünnt zu werden.

Verwendet man zum Titrieren immer 5 ccm Urin, so sind zur Bestimmung der Zehntel-Prozente folgende Titrierungen denkbar:

	Urin ccm	Kupfer- lösung A ccm	Essig- säure B ccm	Ferrocyan. C
1 % Zucker erfordert	5	10	10	3 Tropf. od. mehr
0,9% „ „	5	9	9	3 „ „ „
0,8% „ „	5	8	8	3 „ „ „
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
0,1% „ „	5	1	1	3 „ „ „

Die Essigsäure soll auf einmal gleich nach dem Kochen zugesetzt werden, erfolgt ihr Zusatz in Tropfen, so schwenkt man erst um, wenn alle Tropfen zugesetzt sind. Das Eiweiß aus eiweißhaltigen Urinen braucht nicht entfernt zu werden.

Das Titrieren erläutert folgendes Beispiel. Man titrierte für 0,4<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, nahm also 5 ccm Urin in einen kleinen Erlenmeyer-Kolben (für 25 ccm oder 50 ccm), fügte 4 ccm A aus einer Bürette zu, kochte lebhaft ca. 15 Sekunden (Zählen auf 15). Abseits vom Feuer setzte man sofort aus einer 2. Bürette oder einer Meßpipette 4 ccm (oder mehr) von B hinzu, oder aber aus einem Tropfenglas 80 Tropfen (oder mehr) von B. Nun schwenkte man um. Nach ca. 15 Sekunden der Ruhe war die Flüssigkeit über dem Niederschlag nahezu weiß und nach nochmaligem Umschwenken weiß. Nun fügte man 3 Tropfen C hinzu. Es trat Farbumschlag von schönem Blau in rotbraun ein. Der Zuckergehalt war also kleiner als 0,4<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. Man titrierte also nunmehr für weniger, nämlich für 0,2<sup>0</sup>/<sub>0</sub>; nahm also 5 ccm Urin, 2 ccm A, 40 Tropfen B, 3 Tropfen C. Es trat kein Farbumschlag ein; der Zuckergehalt war also größer als 0,2<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. Man titrierte also für 0,3<sup>0</sup>/<sub>0</sub>; nahm 5 ccm Urin, 3 ccm A, 60 Tropfen B, 3 Tropfen C; es trat Farbumschlag ein. Der Zuckergehalt war also 0,2 bis 0,3<sup>0</sup>/<sub>0</sub>.

#### Bestimmung der Hundertstel-Prozente.

Man titrierte für 0,24<sup>0</sup>/<sub>0</sub>; nahm also 5 ccm Urin, 2,4 ccm von A, ca. 48 Tropfen B und 3 Tropfen C, man erhielt keinen Farbumschlag; also war mehr als 0,24<sup>0</sup>/<sub>0</sub> Zucker vorhanden. Das Titrieren für 0,25<sup>0</sup>/<sub>0</sub> gab Farbumschlag, also war der Zuckergehalt 0,24 bis 0,25<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, oder 0,245<sup>0</sup>/<sub>0</sub>.

Das Verfahren gleicht ganz und gar demjenigen, das man anwendet, um das Gewicht eines Körpers zu bestimmen, von dem man weiß, daß er zwischen 0 und 10 g wiegt. Hier legt man 5 g auf die eine Wagschale, ist es zu viel (Farbumschlag nach rotbraun), so nimmt man weniger Gramme, ist es zu wenig, so nimmt man mehr Gramme (kein Farbumschlag); sind die Gramme bestimmt, so ermittelt man analog die Zentigramme.

Der mit dem Wägen Vertraute wird schneller zum Ziele gelangen als der wenig Geübte, beide aber gleiches Resultat erlangen.

In 10 Minuten wird man im allgemeinen, wenn alles vorbereitet ist, die Bestimmung des Zuckers auf Hundertstel-Prozente vollführen können.

Sollen auch die Tausendstel bestimmt werden, so arbeitet man mit viermal so großen Flüssigkeitsmassen, verwendet also je 20 ccm Urin.

### Bestimmung der Prozente von 0,1 bis 0,01%.

Diese Bestimmung wird selten notwendig, da die Urine an sich schon meist ein Reduktionsvermögen besitzen, das größer ist als dasjenige einer 0,1%igen Zuckerlösung.

Es sind folgende Titrierungen denkbar:

	Urin ccm	A ccm	B Tr.	C Tr.
0,1 % Zucker erfordert	5	1	20	ca. 3
0,09 % „ „	5	0,9	18	„ 3
0,08 % „ „	5	0,8	16	„ 3
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
0,01 % „ „	5	0,1	2	1

Es ist für diese niedrigen Prozente notwendig, daß man die 5 ccm Urin mit 3 Tropfen der Flüssigkeit

E. 1 Vol. offiz. Natronlauge + 1 Vol. Glycerin versetzt und zwar vor dem Zusatz der Kupferlösung, und daß man dementsprechend die angegebenen Säuremengen um 3 oder mehr Tropfen vermehrt. Sollen die 0,1 bis 1 ccm Kupferlösung A scharf abgemessen werden, so entnimmt man sie nicht einer Bürette, sondern einer Meßpipette für 1 ccm, bei der 0,1 ccm noch einer Rohrlänge von ca. 2 cm entsprechen.

Die Urine enthalten schon an sich Substanzen, welche die Lösung des  $\text{Cu}_2\text{O}$  in Essigsäure befördern. Bei anderen zuckerhaltigen Flüssigkeiten setzt man den 5 ccm, die jede Titrierung erfordert, ca. 1 g festes Chlornatrium zu, eine Menge, die man sich am Reagenzglas merken kann, in welchem man das Titrieren vornimmt; oder aber man gibt z. B. 45 ccm Zucker-

flüssigkeit in einen Meßkolben von 50 ccm, setzt ca. 10 g Chlornatrium zu, füllt bis zur Marke mit Wasser nach und löst durch Schütteln. Ist das Chlornatrium feinkörnig, so erfolgt die Lösung durch Schütteln schon innerhalb einer Minute. Man füllt dann wieder bis zur Marke auf und hat jetzt mit einer Verdünnung 9 Vol. = 10 Vol. zu rechnen.

Die zuckerhaltigen Urine bedürfen im allgemeinen eines Chlornatriumzusatzes nur bei notwendig werdender Verdünnung, und man kann dann beim Verdünnen das Chlornatrium einverleiben.

Nimmt man statt der Essigsäure Salzsäure 3,5 bis 4 normal, so ist der Chlornatriumzusatz nicht erforderlich, das  $\text{Cu}_2\text{O}$  löst sich dann besonders leicht; störend wirkt dann aber bei Harnen die rötliche oder manchmal auch violette Farbe, welche die Salzsäure mit den Harnen hervorruft.

Benützt man die 2 folgenden Pipetten, so wird die Zuckerbestimmung sehr einfach, man braucht dann keine Büretten und sehr wenig Zucker- oder Urinflüssigkeit. Eine Bestimmung auf die Hundertstel der Prozente erfordert etwa 5 Minuten, auch sind die Prozente direkt ablesbar. Das 15 Sekunden lange lebhaftes Kochen der Mischung von Urinlösung und alkalischer Kupferlösung geschieht, um unangenehmes Herausschleudern der Flüssigkeit zu vermeiden, unter Zusatz von groben Körnern Quarz oder Glasand (1 kg bei Merck 60 Pfennig) in gewöhnlichen kleinen Reagenzgläsern, im allgemeinen Länge 130 mm, Weite 13 mm, und wenn diese zum Kochen zu klein, so wird ihr Inhalt in ein größeres Reagenzglas ohne Nachspülen gegeben und dort erhitzt.

#### Meßpipette K für Kupferlösung A mit Angabe von Zuckerprozenten.

Von unten aus ist an ihr eingeztzt 0; 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4%. Hier befindet sich auch der Buchstabe H; sodann 0,5%; 0,6%; 0,7%; 0,8%; 0,9%, 1% Zucker.

Das Volumen zwischen 2 dieser Zahlen beträgt je  $\frac{1}{2}$  ccm und ist noch in je 10 gleiche Teile geteilt, so daß die Hundertstel-Prozente direkt abgelesen werden können. Ist z. B. die Kupfermenge für 0,3% Zucker mittels der Pipette K zu



entnehmen, so ist dies die Menge der Lösung A vom unteren letzten Teilstrich der Pipette bis zum Teilstrich 0,3‰.

**Vollpipette U für 2½ ccm Zuckerlösung.**

Sie trägt für die etwa notwendig werdende Verdünnung der Zuckerlösung die Buchstaben c, b, a, U, von unten bis U resp. a; resp. b; resp. c sind die Volumen 2,5 ccm,  $\frac{2,5}{2}$  ccm,  $\frac{2,5}{4}$  ccm,  $\frac{2,5}{10}$  ccm. Beide Pipetten liefert Dr. Karl Goercki, Hannover, Klagesmarkt. (Preis vor dem Kriege 50 u. 80 Pf.)

Die möglichen Titrierungen gibt jetzt folgende Tabelle:

	Urin ccm	Kupfer- lösung ‰	Säure Tr.	Ferrocyan- k. Tr.
1 ‰ Zucker erfordert	2½	für 1	100	1—3
0,9 ‰ „ „	2½	„ 0,9	90	1—3
0,8 ‰ „ „	2½	„ 0,8	80	1—3
⋮				⋮
0,1 ‰ „ „	2½	„ 0,1	10	1—3
0,09 ‰ „ „	2½	„ 0,09	9	1
0,08 ‰ „ „	2½	„ 0,08	8	1
⋮				⋮
0,01 ‰ „ „	2½	„ 0,01	1	1

Bei 0,1 bis 0,01‰ ist den 2½ ccm 1 bis 2 Tropfen von E zuzusetzen und dementsprechend die Säure um 1 bis 2 oder mehr Tropfen zu vermehren. Die Säuremenge darf beliebig groß genommen werden, sie muß eben, wie schon oben gesagt, hinreichen, um das Cu<sub>2</sub>O zu lösen. Das Titrieren für 0,3‰ Zucker geschieht z. B. folgendermaßen: mit der Pipette U gibt man 2½ ccm Urin in ein Reagenzglas, fügt einige Quarzkörner zu und sodann die Kupfermenge für 0,3‰ mit der Pipette K. Man kocht ca. 15 Sekunden oder mehr, setzt dann 30 Tropfen Säure zu und nach dem Umschwenken 1—3 Tropfen Ferrocyankalium. Bei Farbenumschlag ist der Zuckergehalt kleiner als 0,3‰, andernfalls größer.

**Verdünnung auf weniger als 1% Zucker.**

1 Vol. = 10 Vol., resp. 1 Vol. = 5 Vol., resp. 1 Vol. = 2 Vol.

Ist der Zucker in großem Überschuß vorhanden, so kann bei der Reduktion der Kupferlösung Geruch nach angebranntem Zucker, Kohle, ja sogar metallisches Kupfer entstehen; ist die Kupferlösung in großem Überschuß vorhanden, so genügt eine Kochzeit von 15 Sekunden nicht zur vollständigen Reduktion; für unser Titrieren ist dies alles nebensächlich, denn bei der letzten maßgebenden Titrierung hat man es mit keinem Überschuß von Zucker mehr zu tun.

Über die vorzunehmenden **Verdünnungen** geben die folgenden Titrierungen Aufschluß.

1. Mit der Pipette K gibt man die Kupferflüssigkeit für 0,4%, d. h. von unten bis zum Buchstaben H, in ein Reagenzglas, fügt mit der Pipette U die Urinmenge von unten bis c bei, gibt 2 Messerspitzen festes Chlornatrium (ca. 0,2 g) hinzu und kocht 15 Sekunden. Nun setzt man sofort 40 Tropfen Säure hinzu und schwenkt um. Nach einigen Sekunden erhält man eine weiße Flüssigkeit über grauem Niederschlag. Gibt man jetzt einige Tropfen C hinzu und erfolgt kein Farbumschlag, so liegt die Zuckermenge zwischen 4% und 10%, es ist dann zu verdünnen 1 Vol. = 10 Vol., und die verdünnte Lösung besitzt jetzt einen Zuckergehalt von 0,4 bis 1%.

Tritt aber Farbumschlag ein, so hat man zu nehmen:

2. Kupferlösung für 0,4% bis H + Urinlösung bis b + 2 Messerspitzen Chlornatrium + 40 Tropfen Säure + Tropfen von C.

Erfolgt kein Farbumschlag, so liegt der Zucker zwischen 4% und 1,6% und es ist dann zu verdünnen 1 Vol. = 5 Vol., und die verdünnte Lösung besitzt 0,8—0,32% Zucker.

Tritt aber Farbumschlag auf, so hat man zu nehmen:

3. Kupferlösung für 0,4 ccm bis H + Urinmengen von unten bis a + 1 Messerspitze Chlornatrium + 40 Tropfen Säure + Tropfen von C.

Erfolgt kein Farbumschlag, so ist 1,6 bis 0,8% Zucker vorhanden, und es ist zu verdünnen 1 Vol. = 2 Vol. Die verdünnte Zuckerlösung hat dann 0,8 bis 0,4% Zucker.

Erfolgt aber Farbumschlag, so ist nicht zu verdünnen.

Die Lösung des  $\text{Cu}_2\text{O}$  in Essigsäure beim verdünnten Urin erfordert einen Zusatz von 20% Chlornatrium. Das Einbringen des Chlornatriums z. B. bei der Verdünnung 1 Vol. = 10 Vol. erfolgt folgendermaßen: 10 ccm Urin + ca. 20 g Chlornatrium werden mit Wasser auf 100 ccm verdünnt. Die Lösung des Chlornatriums vollzieht man in der Kälte durch Schütteln.

Der praktische Arzt, der sich mit der Methode der vorstehenden Zuckerbestimmung vertraut machen will, stelle sich eine 1%ige Dextroselösung her: 1 g Traubenzucker löst man in Wasser, setzt 3 Tropfen Acidum carbolicum liquefactum zu und verdünnt auf 100 ccm. Diese Lösung ist jahrelang haltbar, oder man verschafft sich Stärke Zucker (100 g ca. 10 Pfennig). Der letztere stellt eine kompakte, weiche Masse dar.

Nimmt man jetzt  $2\frac{1}{2}$  ccm Urin eines Gesunden, fügt Kupferlösung für 0,3% zu, kocht 15 Sekunden, setzt 30 Tropfen Säure und nach dem Umschwenken Tropfen von Ferrocyankalium zu, so erfolgt immer Farbumschlag von weiß in rotbraun. Nimmt man aber  $2\frac{1}{2}$  ccm Urin + 20 Tropfen der 1%igen Zuckerlösung und verfährt wie vorhin (A für 0,3%, 30 Tropfen B, Tropfen von C), so erfolgt kein Farbumschlag. Statt der 20 Tropfen kann man auch ein entsprechend kleines Stückchen des Stärke Zuckers nehmen.

Der Farbumschlag zeigt sich auch recht deutlich in der Farbe des auftretenden Niederschlags.

### Entfernung des Zuckers durch Gärung, Eigenreduktion und wahrer Zuckergehalt.

Bei der ärztlichen Zuckerbestimmung handelt es sich nur um Traubenzucker. Die Bestimmung der Isomaltose, des Harn-dextrins und der Lactose neben dem Traubenzucker, die Reinkulturen von Hefe (*Saccharomyces Kefir* und *Torula monosa*) erfordert, scheidet hier aus. Da diese Reinkulturen erst auf Agarböden gezüchtet werden müssen und schwer zu beschaffen sind, so wird die Preßhefe sich nicht verdrängen lassen.

Milchzucker kommt nur vorübergehend bei säugenden Frauen vor. Traubenzucker findet sich in kleinen Mengen,

bis zu höchstens 0,1%<sup>1)</sup> und höchstens 0,62 g<sup>2)</sup> pro die im Harn Gesunder; bei Diabetes beträgt der Traubenzucker bis zu 10%. Ist der Zucker so gering, daß er mit den gewöhnlichen Methoden (Polarisation, Gärungssaccharometer, Nylandersche, Trommersche Probe, Worm-Müllersche Probe) nicht mehr nachgewiesen werden kann, so bezeichnet man ihn wohl auch als zuckerfrei; als völlig zuckerfrei ist aber nur der durch Gärung zuckerfrei gemachte Urin anzusehen.

Wie meist üblich, lassen wir mit 10% Hefe bei 34 bis 36° C. vergären; die zum Vergären notwendige Zeit wächst unter solchen Umständen mit dem Zuckergehalt, und da Harne mit mehr als 1% Zucker auf weniger als 1% durch Verdünnen zu bringen sind, so interessiert uns nur die Gärung einer 1%igen Zuckerlösung. Victorow (Pfl. Arch. 1907, Bd. 118 Seite 583 bis 600) hat nachgewiesen, daß unter den genannten Umständen eine 1%ige reine Zuckerlösung nach 2 Stunden Gärung nur noch Spuren von Zucker aufweist (die Worm-Müllersche Probe zeigte sich erst 24 Stunden nach ihrer Anstellung als positiv), daß aber zuckerhaltige Urine noch weit schneller vergären, vermöge der Nährstoffe, welche die Hefe im Harne antrifft. Nach 6 Stunden waren zum Beispiel die Harne mit 10% Zucker schon vollständig vergoren, während eine 10%ige reine Zuckerlösung mehr als die dreifache Zeit, nämlich 20 Stunden erforderte.

Versuche über einstündige Gärung bei reinen Zuckerlösungen und über 1-, 2-, 3-, 4-, 5stündige Gärung bei zuckerhaltigen Urinen liegen aber von Victorow nicht vor. Da quantitative Versuche über den nach einer bestimmten Gärzeit noch vorhandenen Zucker auch nicht vorhanden sind, so stellte ich mir die Aufgabe, die nach **einstündiger** Gärung noch vor-

<sup>1)</sup> Schöndorff, Pflügers Arch. d. g. Physiol., Bd. 121, S. 572 (1908).

<sup>2)</sup> Worm-Müller, Pflügers Arch. d. g. Physiol., Bd. 33, S. 212. — Quingnaud, C. r. de la Soc. biol., Bd. 14, S. 349. Nach Nagasaki (Diese Zeitschr., Bd. 95 [1915]) höchstens 0,054% und höchstens 0,450 g pro die; nach W. Müller 0,01—0,05%, Pflügers Archiv, Bd. 33, S. 212; nach Gréhant 0,20—0,48 g pro die C. r., Bd. 106, S. 1249; nach Hilding-Lavesson, Biochem. Zeitschr., Bd. 4, S. 40 (1907); 0,031—0,040%.

handene Zuckermenge zu bestimmen für eine ursprünglich 1%ige reine Zuckerlösung.

a) 150 ccm Wasser wurden mit 15 g Hefe verrieben und in ein Kölbchen gebracht.

b) 100 ccm Zuckerlösung mit 1 g Zucker wurden ebenfalls mit 10 g Hefe verrieben und in ein Kölbchen gebracht.

Nun wurden a und b in ein Metallgefäß gestellt, das ca. 3 l Wasser von 34 bis 36° C. enthielt, und das mit der kleinen Flamme am Fuße des Bunsenbrenners nach Abschrauben des Rohres auf dieser Temperatur erhalten wurde. Genau nach einer Stunde wurden die Flüssigkeiten in den Kölbchen auf 3° abgekühlt und filtriert. Bei der Filtration bediente ich mich der Kieselgur (1 kg geschlemmt ca. 40 Pfennig), welche Lassarcohn in seiner Praxis der Harnuntersuchungen zur Untersuchung trüber Urine auf Eiweiß empfiehlt, und mit der man imstande ist, aus dem trübsten Urin ein glanzhelles Filtrat zu gewinnen.

c) 0,1 g Zucker + 10 g Chlornatrium wurden auf 100 ccm gebracht.

d) 5 ccm Kupferlösung A wurden mit 30 Tropfen E versetzt und auf 50 ccm mit Wasser verdünnt.

Von 10 ccm der folgenden Flüssigkeiten wurde nun das Reduktionsvermögen bestimmt.

I. 45 ccm des Filtrats a + 2,5 ccm von c + 5 g Chlornatrium verdünnt auf 50 ccm. 10 ccm hiervon reduzierten 1,35 ccm von d.

II. 2,5 ccm von c + 5 g Chlornatrium verdünnt auf 50 ccm. 10 ccm dieser 0,005%igen Zuckerlösung reduzierten 1 ccm von d.

III. 45 ccm des Filtrats von b + 5 g Chlornatrium auf 50 ccm verdünnt.

10 ccm hiervon reduzierten 1,10 ccm von d.

IV. Zur Probe: 45 ccm des Filtrats a + 5 g Chlornatrium, verdünnt auf 50 ccm. 10 ccm hiervon reduzierten 0,35 ccm von d.

Beim Titrieren wurden die 10 ccm mit 6 Tropfen E versetzt, es wurde 30 Sekunden gekocht, mit Essigsäure angesäuert, ca. 30 Sekunden in kaltem Wasser abgekühlt und nun 1 Tropfen Ferrocyankalium zugefügt.

Die 1,1 ccm und 1 ccm in II und III lassen sofort erkennen, daß das Reduktionsvermögen nach der Gärung kleiner als das einer 0,01%igen Zuckerlösung ist.

Nun enthält I, III, IV die Filtrate von a und b in der Verdünnung  $45 = 50$ , d. h.  $9 = 10$ .

I minus II gibt somit: 9 ccm des Hefefiltrates a reduziert 0,35 ccm von d, was auch durch IV vollständig bestätigt wird.

III gibt: 9 ccm des Filtrats der vergorenen Zuckerlösung reduzieren 1,10 ccm von d, hiervon entfallen auf die Hefe 0,35 ccm und der Rest 0,75 ccm auf den noch vorhandenen Zucker.

Berücksichtigt man, daß 1 ccm von d nach II 0,5 mg Dextrose anzeigt, so folgt: nach der Gärung sind noch  $z = 0,004\%$  Zucker vorhanden und der Zusatz von  $10\%$  Hefe vermehrt für sich das Reduktionsvermögen um  $h = 0,002\%$  auf  $0,006\%$ . Die Größe  $z$  könnte man auf 0 bringen durch Erhöhung der Gärzeit, nicht aber die Größe  $h$ , so lange man  $10\%$  Hefe verwendet;  $z + h$  schwankt also zwischen 0,006 und 0,002.

Zahlreiche ähnliche Analysen ergaben immer, daß nach einstündiger Gärung ein Reduktionsvermögen  $z + h$  kleiner als  $0,01\%$  übrigblieb, und da der zuckerhaltige Harn noch leichter vergärt als eine reine Zuckerlösung; so kann man beim Harn mit  $1\%$  Zucker bei einstündiger Gärung mit dem Mittelwert  $z + h = 0,004\%$  rechnen. Ist das durch Titrieren bestimmte Reduktionsvermögen vor der Gärung  $R$  und nach der Gärung  $r$ , so ist der Zuckergehalt des Harns

$$R - \frac{105}{100} (r - z - h) \text{ Prozente.}$$

Zum Nachweis hierfür dienen zunächst folgende theoretische Ausführungen:

1. Um wieviel Kubikzentimeter vermehren sich 100 ccm Lösung mit 1 g Traubenzucker, wenn der Zucker vergoren und die Kohlensäure entfernt wird?

Die theoretische chemische Zersetzungsgleichung liefert: 1 g Dextrose gibt 0,49 g Kohlensäure + 0,51 g Alkohol. Nun wiegen 100 ccm Zuckerlösung mit 1 g Dextrose 100,38 g (Chemikerkalender Seite 299 I), nach Abzug der Kohlensäure

verbleiben also noch 99,89 g Flüssigkeit mit 0,51 g Alkohol, d. h. eine Flüssigkeit mit 0,5106 Gewichtsprozenten Alkohol. Eine solche hat das spezifische Gewicht 0,997; die 99,89 g Flüssigkeit nehmen also einen Raum von 100,19 ccm ein, die gesuchte Vermehrung beträgt somit 0,19 ccm.

0,16 ccm ergibt sich, wenn man damit rechnet, daß nach Jodelbauer<sup>1)</sup> 100 g Dextrose in Wirklichkeit 46,54 g Kohlensäure + 48,67 g Alkohol + 3,71 g Glycerin ergeben, was allerdings nach Jodelbauer voraussetzt, daß auf 1 g Zucker nicht mehr als  $\frac{1}{2}$  g Hefe kommt, bei mehr Hefe ist die Kohlensäuremenge etwas größer und das Mehr rührt dann von Knospenbildung der Hefenzellen her.

Analog findet man, daß 100 ccm Lösung mit 0,1 g Dextrose sich um 0,02 ccm durch Gärung vermehren.

Bedenkt man, daß 100 ccm Wasser von 15° C. um 10° erwärmt eine Zunahme von 0,2 ccm erfahren, so ist ersichtlich, daß die Volumvermehrung durch Gärung bei Zuckerlösungen von 0 bis 1% vernachlässigt werden kann.

2. 100 ccm Lösung mit p g Dextrose ( $p < 1$ ) werden mit 10 g Hefe vergoren. Die Lösung wird filtriert. Wieviel Kubikzentimeter Filtrat würde man erhalten, wenn das Wasser des Rückstandes vollständig dem Filtrat einverleibt würde?

Da die Hefe einen mittleren Wassergehalt von 50% hat, so hat man 105 ccm Flüssigkeit mit p g Dextrose, und da die Vermehrung durch Gärung vernachlässigt werden kann, so entspricht die Gärung einer Verdünnung von 100 ccm = 105 ccm und deshalb ist der Zuckergehalt vor der Gärung:

$$R - \frac{105}{100}(r-z-h) = R - \frac{105}{100}(r - 0,004) = R - \frac{105r}{100} + 0,0042 \text{ Proz.}$$

Die Eigenreduktion des Urins  $\frac{105}{100}(r - 0,004)$  differiert von r im Maximum um 0,01%, denn es ist erfahrungsgemäß r im Maximum 0,2. Man kann also mit einem Fehler von 0,01% die Eigenreduktion auch gleich r und mit demselben Fehler grenzen den Zuckergehalt gleich (R-r) Prozente setzen,

<sup>1)</sup> Neubauer-Huppert, Harnanalyse, S. 346.

wodurch sich die Rechnung etwas vereinfacht, allerdings auf Kosten der Genauigkeit.

Die Eigenreduktion des Urins, das von Nichtdextrose, nämlich von Kreatinin, Kreatin, Harnsäure usw. herrührende Reduktionsvermögen kann also beim Urin mit weniger als 1% Zucker durch Titrieren schon nach einstündiger Gärung bestimmt werden. Diese Gärung nimmt man folgendermaßen vor. 5 g Preßhefe werden mit 50 ccm Urin verrieben — zeigt er alkalische Reaktion gegen rotes Lackmuspapier, so ist er mit Tropfen Essigsäure neutral oder schwach sauer zu machen —, dann in ein Kölbchen gegeben, das durch einen Stopfen mit einer sehr engen durchgehenden Röhre verschlossen wird.

In einem Gefäß bringt man ca. 2 bis 3 l Wasser auf 38° C., in dieses Wasser stellt man das Kölbchen und deckt das Blechgefäß gut zu. Nach einer Stunde ist die Temperatur auf etwa 30° gefallen. Man nimmt jetzt das Kölbchen heraus, fügt zum schnellen Filtrieren ca.  $\frac{1}{2}$  g Kieselgur zu, schüttelt und bringt sofort den ganzen Inhalt auf ein entsprechend großes Filter. Das noch etwas trübe Filtrat kann sofort zur chemischen Untersuchung benützt werden, sein Reduktionsvermögen ist immer gleich oder kleiner als 0,2% und kann in wenigen Minuten auf Hundertstel genau bestimmt werden. Will man eine größere Menge glanzhellen Filtrates, so gießt man das zuerst trüb Ablaufende aufs Filter zurück; das Filtrat kann man mit ca. 2 Tropfen acid. carb. liquefact. versetzen, um es zu konservieren.<sup>1)</sup>

Über die Größe der Eigenreduktion gehen die Angaben sehr auseinander, sie ist

a) Mit Fehlingscher Lösung bestimmt nach Flückiger (Diese Zeitschr. Bd 9, S. 333, 1885) 0,15 bis 0,25%; nach Salkowski 0,38—0,93% (Diese Zeitschr. Bd. 17, S. 237, 1892); nach Munk 0,15—0,47% (Virchows Archiv Bd. 105, S. 70, 1886); nach W. Müller bis 0,3% (Pfl. Arch. Bd. 27, S. 110).

b) Mit der Knappschen Lösung bestimmt, nach W. Müller 0,05—0,4% (Pfl. Arch. Bd. 33, S. 211).

<sup>1)</sup> Alkalische Urine lassen sich nur konservieren, wenn man sie zuvor neutral oder sauer macht.



c) Mit der Bangschen Lösung bestimmt nach Hilding-Lavesson (Bioch. Zeitschr. Bd. 4, S. 40, 1907) 0,161—0,437‰.

d) Mit der Benedictschen Flüssigkeit bestimmt nach Nagasaki 0,070—0,310‰ (Diese Zeitschr. Bd. 95, 1915).

Daß a, b, c, d verschiedene Werte liefern, ist erklärlich, nicht aber, daß bei ein- und derselben Kupferlösung der Maximalwert so sehr differiert.

Über die Schwierigkeit der Bestimmung der Eigenreduktion mit der Fehlingschen Lösung schreibt W. Müller:

Die im Vorangehenden mitgeteilten Resultate von Titrierungen mittels der Knappschen Flüssigkeit zur Bestimmung der Eigenreduktion lassen sich indessen kaum in ihrer ganzen Ausdehnung auf die alkalische Kupferlösung überführen. Es dürfte vielmehr aller Wahrscheinlichkeit nach eine gewisse Abweichung sich geltend machen. Es würde daher von großer Bedeutung gewesen sein, wenn man vergleichende Bestimmungen mit der Fehlingschen Flüssigkeit hätte ausführen können, aber weder der ursprüngliche, noch der entfärbte Harn lassen sich nach dieser Methode direkt titrieren, da das Filtrat hier immer aufgelöstes Kupferoxyd enthält.

Diese Schwierigkeiten fallen bei unserem Titrierverfahren weg, wir finden als maximale Eigenreduktion in der Fehlingschen Lösung 0,20‰.

Beispiel 1. Der Harn hatte vor der Gärung das Reduktionsvermögen 0,145‰; nach der Gärung war das Reduktionsvermögen des Filtrats 0,120‰, somit die Eigenreduktion 0,12‰ und daher der Zuckergehalt 0,025‰.

Beispiel 2. Der Harn mußte verdünnt werden; da seine Reduktion vor der Gärung größer als 1‰ war. Die Verdünnung war 1 Vol. = 2 Vol. Der verdünnte Harn hatte das Reduktionsvermögen 0,76‰: er lieferte mit 10‰ Hefe bei 35° C. und einer Stunde Gärung ein Filtrat vom Reduktionsvermögen 0,03‰, die Eigenreduktion des verdünnten Urins war also 0,03‰ und der Zuckergehalt 0,73‰, also der des unverdünnten Urins 1,46‰.

Schöndorff (Pfl. Arch. Bd. 121, 1908) läßt zur Entfernung des Traubenzuckers 24 bis 60 Stunden bei 34° vergären. Da

in dieser Zeit die reichlich zugesetzte Hefe die denkbar günstigsten Bedingungen zu ihrem Wachstum findet und die stickstoffhaltigen Substanzen Nährmittel der Hefe sind, so erleidet nicht nur der Traubenzucker eine chemische Zersetzung, sondern auch andere Urinsubstanzen, welche die Fehlingsche Lösung reduzieren. Durch die der gewöhnlichen Preßhefe beigemengten Spaltpilze kommt es in dieser langen Zeit auch zum Vergären des Milchzuckers, was bei reingezüchteter Hefe (*saccharomyces apiculatus*) nicht der Fall wäre.

Das Reduktionsvermögen ist nach diesen 60 Stunden aus diesen Gründen etwas geringer als dasjenige nach einstündiger Gärung.

Was die Gärung anlangt, so sei noch folgendes bemerkt. Lange Zeit, nachdem schon aller Zucker durch Gärung verschwunden, sieht man noch Kohlensäurebläschen in der Flüssigkeit emporsteigen, denn die Kohlensäure in den Hefezellen tritt langsam unter Druckentfaltung aus den elastischen Zellwänden und auch ein Teil der von der Flüssigkeit absorbierten Kohlensäure tritt erst allmählich in Gasform zutage. Das Verschwinden des Zuckers und das Aufhören des Aufsteigens von Kohlensäure und von Hefezellen fallen also zeitlich nicht zusammen.

Die Gärungssaccharometer zeigen daher erst geraume Zeit nach dem Verschwinden des Zuckers das Maximum von Kohlensäure an. Bei dem kleinen Lohnsteinschen, für 0 bis 1% Zucker, kann man diese Zeit durch passendes Schütteln (unter Beibehaltung des Quecksilberabschlusses) abkürzen. Die Flüssigkeitsoberfläche fällt dann oft sofort um 1 bis 2 cm.

Es ist bekannt, daß mit Rücksicht auf die Absorption der Kohlensäure durch die Flüssigkeit erst von 0,3% Zucker an gasförmige Kohlensäure auftreten sollte, daß dies aber aus unbekanntem Gründen in Wirklichkeit nicht zutrifft (Neubauer-Huppert, S. 351).

Unter Annahme, daß die Angaben der Prozente am großen Lohnsteinschen Saccharometer richtig sind, habe ich die gasförmigen Kohlensäuremengen berechnet, die bei verschiedenen Zuckerprozenten auftreten; dabei habe ich die Skala

für 20° C. und 76 cm Druck benutzt. Die Volumausmessungen geschahen sämtlich mit Quecksilber. Der Luftraum über dem Quecksilber in der Kugel war 1,47 ccm vor Einbringen der 0,5 ccm Zuckerflüssigkeit und der 2 Tropfen Hefebrei, also nach dem Einbringen noch  $v_0 = 0,87$  ccm.

Die Berechnung für 4% Zucker ist folgende.

Brachte man das Quecksilber im Apparat auf den Teilstrich 4%, so war der Höhenunterschied der Quecksilberoberflächen kathetometrisch gemessen  $h = 9,6$  cm. Die Ausmessung des Volumens zwischen den Teilstrichen 0% und 4% ergab  $v = 3,944$  ccm.

Ist bei Ablesung der 4% die Temperatur 20° C. und der Barometerstand  $b$ , so erhält man als entwickelte gasförmige Kohlensäure, auf 0° 76 cm Druck bezogen,

$$x = \frac{273}{273 + 20} \left[ (v_0 + v) \frac{b + h}{76} - v_0 \frac{b}{76} \right]$$

$$x = \frac{273}{76 \cdot 293} [v_0 h + v (b + h)] \text{ u. da } b = 76, \text{ so ist}$$

$$x = 4,236 \text{ ccm.}$$

Zur Berechnung der absorbierten Kohlensäure ist zu berücksichtigen, daß 0 bis 10% Zucker Alkohol von 0 bis 5% ergeben, und daß für diesen der Absorptionskoeffizient der Kohlensäure bei 20° C. 0,878 bis 0,861 ist, so daß bei 4% Zucker mit dem Koeffizienten 0,871 zu rechnen ist. Die 0,5 ccm absorbieren also bei 76 cm Druck 0,436 ccm Kohlensäure und beim

Druck  $76 + h = 85,6$  cm, demnach  $\frac{0,436 \cdot 85,6}{76} = 0,491$  ccm.

Gasförmige und absorbierte Kohlensäure betragen also zusammen 4,727 ccm.

Nach Jodelbauers bedeutsamen Untersuchungen (Zeitschrift des Vereins für Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reiches 1888, S. 309) gibt aber 1 g Dextrose 0,4654 g Kohlensäure

$$= \frac{465,4}{1,977} = 235,4 \text{ ccm Kohlensäure von } 0^\circ \text{ und } 76 \text{ cm Druck.}$$

Die 0,5 ccm Zuckerflüssigkeit mit 4% Zucker oder mit 0,2 g Dextrose mußten also 4,708 ccm Kohlensäure ergeben.

Die Übereinstimmung auf Zehntelkubikzentimeter mit der obigen Zahl darf — bei den schwierigen Ausmessungen des Apparats — als gut bezeichnet werden.

Nachfolgende Zusammenstellung gibt die Zahlen für einige Prozente. 2,6% und 1,7% wurden gewählt, weil von 2,6% bis 10% und von 0 bis 1,7% der Querschnitt des Apparats konstant ist.

Zucker %	76 + h ccm	CO <sub>2</sub> im Apparat ccm	Absorb. CO <sub>2</sub> berechnet ccm	Summe ccm	Nach Jodel- bauer berechnet ccm
0,1	76,3	0,067	0,441	0,508	0,118
0,5	77,6	0,352	0,448	0,800	0,589
1	79,5	0,769	0,458	1,227	1,177
1,7	82,6	1,547	0,475	2,022	2,001
2,6	84,1	2,665	0,483	3,148	3,060
4	85,6	4,236	0,491	4,727	4,708
6	87,8	6,595	0,501	7,096	7,062
9	91,0	10,100	0,516	10,616	10,593

Bei 1—10% Zucker entwickelt also 1 g Dextrose die von Jodlbaur angegebene Menge 235,4 ccm Kohlensäure, nicht aber bei weniger als 1% Zucker. Hier ist die Kohlensäuremenge beträchtlich größer, bei 0,1% Zucker sogar über 4mal so groß. Dieses Mehr an Kohlensäure kann nicht mehr von der Zersetzung des Zuckers herrühren, es muß die Folge der Sprossenbildung der Hefezellen sein.

Bei 0 bis 1% Zucker setzen also die Saccharometer eine möglichst gleiche Beschaffenheit der Hefe voraus.

Auffallend ist bei allen mir bekannten Saccharometern, daß 2 gleiche Apparate eine identische Skala aufweisen, so daß es scheint, daß die Skalen keinem jedesmaligen Ausprobieren entsprechen, denn mathematisch kongruent können 2 solche Apparate doch wohl nicht sein.

Bei 0 bis 0,3% ist die Angabe der Gärungssaccharometer meines Erachtens ungenau wegen der schwer durchführbaren Reduktion auf 0° und 76 cm Druck.

Diese Reduktion und auch genauere Ablesung des Standes des Quecksilbermeniskus ließe sich durch einige Abänderungen der Apparate und Beigabe einer Meniskus-Visierblende erreichen.

Pflüger (Pfl. Arch. Bd. 105, 1904, S. 121 bis 175) hat gegen die Messung des Zuckers durch die entwickelte Kohlensäure mancherlei Einwendungen erhoben und besonders nachgewiesen — wie auch vor ihm Hedin (Neubauer-Huppert S. 347) —, daß die Kohlensäuremenge auch von der Menge des vorhandenen Harnstoffs abhängt.

### Mathematische Beziehung zwischen Eigenreduktion und spezifischem Gewicht.

Es wäre von Vorteil, wenn die Gärung und damit die Untersuchung des vergorenen Urins in Wegfall käme. Die folgenden Betrachtungen, die aus dem spezifischen Gewicht die Eigenreduktion zu berechnen gestatten, dürften daher willkommen sein. Hat ein zuckerfreier Urin das spezifische Gewicht  $s$  und die Eigenreduktion  $e$ , und bringt man ihn auf das spezifische Gewicht 1,010 durch Verdünnen mit Wasser (wenn  $s > 1,010$ ) oder durch Einengen (wenn  $s < 1,010$ ), so hat er jetzt die Eigenreduktion  $E = \frac{e}{100} \cdot \frac{1}{s-1}$ .

Nachweis: der ursprüngliche Urin hatte bei einem Versuch das spezifische Gewicht 1,016; seine Eigenreduktion möge  $e\%$  sein. Dieser Urin mit Wasser verdünnt, so daß 1 Vol. = 2 Vol., hatte das spezifische Gewicht 1,008. Da in 100 ccm des verdünnten Urins nur halb so viel Bestandteile des ursprünglichen Urins enthalten waren, so mußte selbstverständlich seine Eigenreduktion  $\frac{e}{2}\%$  sein. Verdünnung, so daß 1 Vol. = 4 Vol., ergab das spezifische Gewicht 1,004, da jetzt in 100 ccm nur  $\frac{1}{4}$  der Bestandteile des Urins enthalten waren, so muß die Eigenreduktion  $\frac{e}{4}\%$  sein. Verdünnung, so daß

1 Vol. = 8 Vol., ergab das spezifische Gewicht 1,002 und die Eigenreduktion  $\frac{e}{8}$  ‰.

Die Abnahmen der spezifischen Gewichte bei der Verdünnung verhält sich also wie die Abnahmen der Eigenreduktionen, was man bei Wasserentzug wohl auch sofort voraussetzen darf.

Berechnet man mathematisch die Abnahme der spezifischen Gewichte bei der Verdünnung unter der Voraussetzung, daß keine Kontraktion mit der Verdünnung verbunden ist, so gelangt man ebenfalls auf die spezifischen Gewichte 1,008; 1,004; 1,002. Da beim spezifischen Gewicht 1 die Eigenreduktion 0 sein wird, so ist für ein und denselben Urin, der beim spezifischen Gewicht  $s$  die Eigenreduktion  $e$  aufweist, und der nach Wasserentzug oder Wasserzufuhr beim spezifischen Gewicht  $S$  die Eigenreduktion  $E$  hat,  $\frac{E-e}{e-0} = \frac{S-s}{s-1}$ ,

woraus  $E = e \frac{S-1}{s-1}$  und mit  $S = 1,010$  also  $E = \frac{e}{100} \cdot \frac{1}{s-1}$ .

Mit dieser Formel lassen sich die Eigenreduktionen bei verschiedenem spezifischen Gewicht mit einander vergleichen.

Da auf den Aräometern die Teilstriche mit ganzen Zahlen versehen sind, welche die Tausendstel des spezifischen Gewichts angeben, so daß 5 identisch mit dem spezifischen Gewichts = 1,005; 20 mit  $s = 1,020$  und 35 mit  $s = 1,035$  ist, so empfiehlt es sich, diese beigeschriebenen Zahlen  $n$  selbst zu benützen und sie als **Aräometerzahlen der Urine** zu bezeichnen. Hat der Urin bei der Messung mit dem Aräometer nicht 15° C., so hat man für jeden Grad, den er über (unter) 15° C. besitzt, 0,25 zu der abgelesenen Zahl zu addieren (subtrahieren). Liest man also bei Zimmertemperatur (20° C.) ab, so hat man 1 zur abgelesenen Aräometerzahl zu addieren; z. B. statt abgelesenem 25 also 26 zu setzen. Das Aräometer von Vogel besteht aus 2 Spindeln für  $s = 1-1,025$  und  $s = 1,025-1,050$ , mit den Zahlen 0-25 und 25-50. Als Aräometer eignet sich auch die Wein- und Mostwage von Öchsle, ihre Grade sind gleichbedeutend mit den Aräometerzahlen  $n$ . Nun

ist  $n = (s-1) \cdot 1000$ , und damit  $E = \frac{10e}{n}$ . Für eine große Zahl von Urinen wurde das spezifische Gewicht bis  $15^\circ$  und die Eigenreduktion  $e$  nach dem Gärverfahren bestimmt, sodann  $E$  berechnet. Folgende 4 Beispiele seien herausgegriffen, von denen das erste das größte, das zweite das kleinste von mir bestimmte  $E$  lieferte:

Spez. Gewicht	1,033	1,012	1,012	1,018
n	33	12	12	18
e	0,185 %	0,030 %	0,055 %	0,094 %
E berechnet	0,056	0,025	0,046	0,052

Man sieht,  $E$  schwankt zwischen 0,025 und 0,056. Mit  $E = 0,06$  erhält man: die maximale Eigenreduktion bei der Aräometerzahl  $n$  ist  $e = 0,006 n\%$ . Dies gibt die folgende Tabelle:

Spezifisches Gewicht	n	Maximum der Eigenreduktion %
1,002	2	0,012
1,003	3	0,018
1,004	4	0,024
1,005	5	0,030
⋮	⋮	⋮
1,010	10	0,060
⋮	⋮	⋮
1,015	15	0,090
⋮	⋮	⋮
1,020	20	0,120
⋮	⋮	⋮
1,025	25	0,150
⋮	⋮	⋮
1,030	30	0,18
⋮	⋮	⋮
1,035	35	0,20
1,036 u. mehr	36 u. mehr	0,20

Da das größte spezifische Gewicht eines zuckerfreien Urins 1,035 ist, so ist die größte Eigenreduktion 0,20%; aus diesem Grunde kann bei höherem spezifischen Gewicht als 1,035 die Eigenreduktion nicht größer als 0,20 sein.

Durch reichliche Getränkeaufnahme kann die Eigenreduktion des Urins einer Person herabgesetzt werden auf nahezu 0%, gleichzeitig setzt man aber dadurch das spezifische Gewicht herab. Angaben wie die bisher üblichen: «Der Urin besitzt eine Eigenreduktion von 0,161—0,437%» sind daher wertlos, zum mindesten sollte man die zugehörigen spezifischen Gewichte beifügen. Das einzig Richtige ist aber, wie ich oben vorschlage, die Eigenreduktion so anzugeben, wie sie nach der Verdünnung (Einengung) auf das spezifische Gewicht 1,010 sich ergibt. Wird die auf das spezifische Gewicht 1,010 umgerechnete Eigenreduktion wie oben mit E bezeichnet, so läßt sich noch nachweisen, daß 100 g der festen Bestandteile eines beliebigen zuckerfreien Urins ebensoviel Kupferlösung reduzieren wie 43 E g reine Dextrose. Man geht bei diesem Nachweis davon aus, daß das um 1 verminderte spezifische Gewicht mit 233 multipliziert die Gramme der in 100 ccm Urin enthaltenen festen Stoffe angibt. (Chemikerkalender II, S. 675.)

Den 13 Analysen von Nagasaki entnehme ich: die maximale Eigenreduktion eines Urins mit der Aräometerzahl  $n$  ist in der Benedictschen Lösung  $0,0103 n$  %; sie ist also beinahe doppelt so groß als die Eigenreduktion ( $0,0055 n$  %) in der Fehlingschen Lösung. Die von Benedict<sup>1)</sup> hervorgehobene geringe Eigenreduktion in seiner Lösung erscheint dagegen beträchtlich.

Die Frage, ob ein Urin **sicher zuckerhaltig** ist, erledigt sich jetzt durch eine von jedem Laien ausführbare Probe. Ist sein spezifisches Gewicht z. B. 1,027, so kommt für die Entscheidung eine Kupferlösung für  $27 \cdot 0,006 = 0,16$  % Zucker in Betracht. Geben  $2\frac{1}{2}$  ccm Urin + Kupferlösung A für 0,16% + Quarzsandkörner nach 15 Sekunden langem Sieden und nach Zusatz von 16 Tropfen B und 2 Tropfen C keinen Farbumschlag, so ist er sicher zuckerhaltig; erfolgt aber Farbumschlag in schokoladebraun, so ist man nicht berechtigt, ihn im obigen Sinn für zuckerhaltig zu erklären. Sein Gehalt an Zucker ist nämlich gering und wird am **sichersten** durch Bestimmung des

<sup>1)</sup> Benedict, Journ. of Biol. chem., Bd. 3, p. 101; Bd. 9, p. 57. Münchn. med. Wochenschr. 1912, Nr. 27.

<sup>2)</sup> «Beiträge zum quantitativen Nachweis des Zuckers im Urin»



Reduktionsvermögens des Urins vor und nach der Gärung ermittelt. Bei dieser Bestimmung wird man auch im Harn völlig Gesunder Zucker finden.

Die Frage, ob ein Urin **sicher diabetisch** ist, erledigt sich ebenso einfach. Ist sein spez. Gewicht z. B. 1,027, so kommt Kupfermenge A für  $27 \cdot 0,006 + 0,1 = 0,162 + 0,1 = 0,26\%$  Zucker in Betracht. Geben  $2\frac{1}{2}$  ccm Urin + Kupfermenge für  $0,26\%$  + Quarzsand nach 15 Sekunden langem Sieden und nach Zusatz von 26 Tropfen B + 1 Tropfen C keinen Farbumschlag, so ist er sicher diabetisch, erfolgt aber Farbumschlag, so ist man nicht berechtigt, ihn für diabetisch zu erklären. Für den praktischen Arzt ist die Bestimmung des spezifischen Gewichts meist lästig. Die erste Frage wird für ihn entschieden durch:  $2\frac{1}{2}$  ccm Urin + 1 ccm A + 20 Tropfen B + 1 Tropfen C; erfolgt kein Farbumschlag, so ist der Urin sicher zuckerhaltig, die 2. Frage durch:

$2\frac{1}{2}$  ccm Urin + 1,5 ccm A + 20 Tropfen B + 1 Tropfen C; erfolgt kein Farbumschlag, so ist er sicher diabetisch.

Der Harn 4 Stunden nach reichlichem Genuß von Kohlenhydraten gibt am besten Aufschluß über Diabetes.

Statt 15 Sekunden zu sieden, kann man auch nach eingetretenem lebhafteren Sieden das Glas 1 Minute aus dem Feuer bringen und dann B und C beisetzen.

Eine höchst empfindliche, zuverlässige Probe auf diabetische Urine ist auch die folgende.

In ein für die linke Hand bestimmtes Reagenzglas mit den Teilstrichen 5 ccm und 15 ccm bringt man 5 ccm Urin, verdünnt auf 15 ccm mit gewöhnlichem Wasser und schüttelt, sodann gießt man weg, bis 5 ccm verdünnter Urin zurückbleiben. In ein zweites für die rechte Hand bestimmtes Reagenzglas mit dem Teilstrich 5 ccm bringt man 1 ccm der Kupferlösung A (= Kupfermenge für  $0,2\%$  mittels der Pipette K) und verdünnt mit Wasser auf 5 ccm. In beide Reagenzgläser gibt man jetzt einige Quarzkörner und erhitzt die Flüssigkeiten über ein und derselben Flamme gleichzeitig zum Sieden.

(Erhitzen bis zum Sieden im einen Reagenzglas, dann bis zum Sieden im andern und nun in beiden zum gleichzeitigen

Sieden, wobei man die Reagenzgläser, unter  $60^{\circ}$  geneigt, gleichzeitig in die Flamme hält.) Man unterbricht das Sieden gleichzeitig, gießt nach 1 Minute — nicht früher — die Kupferlösung in die Urinflüssigkeit und läßt die Mischung stehen. Stellt sich 10 Minuten nach dem Zusammengießen staubige Trübung<sup>1)</sup> ein, so ist der Zuckergehalt des ursprünglichen Urins größer als 0,1%, also anormal. Zur Feststellung der staubigen Trübung beobachtet man die Mischung bei dunklem Hintergrund. Hinter das Reagenzglas im Ständer stellt man z. B. ein mit mattschwarzem Tuch bespanntes Brettchen auf und stellt den Ständer so, daß beim Betrachten des Reagenzglases keine glänzenden Lichtstreifen längs der Glaswand entstehen. Die staubige Trübung ist fluorescierend, schmutzig orangefarbig oder gelbgrün oder auch weiß opalisierend. Die Beleuchtung braucht dabei keine intensive zu sein. Es genügt, einmal diese staubige Trübung gesehen zu haben, um für immer sicher zu gehen. Man nehme zu diesem Zweck die Probe mit dem Urin eines Gesunden so vor, daß man das eine Mal vor dem Erhitzen den 5 ccm verdünnten Urins 4—5 Tropfen der 1%igen Zuckerlösung (S. 141) oder ein kleines Stückchen Stärkezucker zusetzt, das andere Mal aber diesen Zusatz unterläßt. Die staubige Trübung rührt von feinverteiltem ausgeschiedenen Kupferoxydhydrat her, tritt sie nicht auf, so bleibt die Flüssigkeit klar bei dunklem Hintergrund, von dem gebildeten Phosphatniederschlag und von einigen umherirrenden, sich leicht abhebenden Flocken desselben abgesehen. Statt in den graduierten Reagenzgläsern zu kochen, kann man auch die 5 ccm der beiden Gläser ohne Nachspülen in gewöhnliche Reagenzgläser umgießen und in diesen zum Kochen erhitzen.

Bestimmt man das Reduktionsvermögen  $p$  des Urins durch Titrieren, so läßt sich ohne Gärung der Zucker annähernd angeben; er ist nämlich  $< p\%$  und auch  $< p$  minus der minimalen Eigenreduktion und zugleich  $> p$  minus der maximalen Eigenreduktion. Die letztere kann aber der früheren Tabelle entnommen werden und die minimale Eigenreduktion

---

<sup>1)</sup> Nach meiner Ansicht handelt es sich dabei um ein Tyndall-Phänomen, hervorgerufen durch kolloidales Kupferoxydul.

ist etwa die Hälfte der maximalen, so daß man annähernd erhält: Zuckergehalt =  $p$  minus  $\frac{3}{4}$  maximale Eigenreduktion.

Beisp. 1.  $n = 25$ ,  $p = 0,41\%$ . Die maximale Eigenreduktion ist nach der Tabelle  $0,150\%$ , also: Zucker annähernd  $0,41 - \frac{3}{4} \cdot 0,15 = 0,30\%$ .

Beisp. 2.  $n = 1,045$ ,  $p = 0,75\%$ . Die maximale Eigenreduktion ist  $0,20$ ; also Zucker annähernd  $0,75 - \frac{3}{4} \cdot 0,20 = 0,60\%$ .

**Die maximale Eigenreduktion  $0,006 \cdot n\%$  steht im Einklang mit den Ergebnissen von Worm-Müller.**

Müller war es nicht möglich, die Eigenreduktion in der Fehlingschen Lösung zu bestimmen (s. oben), seine schätzungsweise Angabe, sie könne oft  $0,2-0,3\%$  betragen, veranlaßte mich, die Angaben von früheren Untersuchungen mit den meinigen zu vergleichen. Die veröffentlichten Urinuntersuchungen von Pflüger, Victorow und Schöndorff aus den Jahren 1904, 1907 und 1908 umfassen ca. 60 Urine; bei keinem derselben ist aber das spezifische Gewicht angegeben, auch konnte ich nachträglich diese spezifischen Gewichte nicht erfahren, ein Beweis dafür, daß man bislang dem Zusammenhang von spezifischem Gewicht und Eigenreduktion keine Beachtung schenkte. Ich mußte auf die 60 Analysen von Müller zurückgreifen, bei denen mir die spezifischen Gewichte zu Gebote standen.

Es ist das Verdienst Müllers, durch jahrelange Untersuchungen am physiologischen Institut zu Christiania nachgewiesen zu haben:

1. Setzt man einem Urin nicht mehr alkalische Kupferlösung zu, als seine Eigenreduktion erfordert, so bilden sich bei  $60-70^\circ$  C. bei der Reduktion nur lösliche Cuproverbindungen; mag dann der Urin zuckerhaltig sein oder nicht.

2. Setzt man einem Urin etwas mehr alkalische Kupferlösung zu, als seine Eigenreduktion erfordert, so bildet sich bei  $60-70^\circ$  bei der Reduktion unlösliches  $\text{CuOH}$ , sobald der Urin zuckerhaltig ist. Schon bei kleinem Zuckergehalt ( $0,025\%$ ) tritt dieses  $\text{CuOH}$  als staubige Trübung zutage. Ist der Urin dagegen zuckerfrei, so tritt unlösliches  $\text{CuOH}$  nicht auf.

Von den 60 normalen Urinen Müllers kommen daher

für mich nur diejenigen in Betracht, in denen Zucker, wenn auch nur in kleiner Menge, nachweisbar war. Bei diesen würde die Eigenreduktion etwas weniger Kupfer erfordern, als zur Bildung von unlöslichem  $\text{CuOH}$  erforderlich ist. Die Müllersche Kupferlösung enthält 2,5% Kupfervitriol, die Fehlingsche 3,464%, 1 ccm Müller auf 5 ccm Urin ist also gleich  $\frac{0,1 \cdot 25}{34,64} = 0,722\%$  Zucker. Setzt man die maximale Eigenreduktion gleich  $0,005 \cdot n\%$  resp.  $0,006 \cdot n\%$ , so ergeben die 12 in Betracht kommende Urine folgenden Tabelle:

Nr.	Spez. Gewicht	Aräometerzahl	Berechnete maximale Eigenreduktion 0,005 n resp. 0,006 n %	Kupferlösung ccm	Beobachtete Reduktion %	Reaktion
1	1,024	24	0,12 resp. 0,144	2 = 0,144 %	< 0,144	deutl. Trübung
2	1,024	ebenso	—	—	—	—
3	1,021	21	0,105 resp. 0,126	2 = 0,144 %	< 0,144	deutl. Trübung
4	1,033	33	0,165 » 0,198	3 = 0,216 %	< 0,216	» »
5	1,027	27	0,135 » 0,162	2,5 = 0,181 %	< 0,181	» »
6	1,035	35	0,175 » 0,210	3,5 = 0,252 %	< 0,252	» »
7	1,031	31	0,155 resp. 0,186	3 = 0,217 %	< 0,217	schwache Trüb.
8	1,026	26	0,13 » 0,156	2,5 = 0,181 %	< 0,181	» »
9	1,026	26	0,13 » 0,156	2 = 0,144 %	< 0,144	» »
10	1,031	31	0,155 » 0,186	3 = 0,217 %	< 0,217	» »
11	1,027	27	0,135 » 0,162	2,5 = 0,181 %	< 0,181	» »
12	1,027	ebenso	—	—	—	—

Ist also die maximale Eigenreduktion 0,005 n, so besteht bei allen 12 Analysen kein Widerspruch mit dieser Annahme; ist sie 0,006 n, so besteht nur ein Widerspruch bei Nr. 9, wo ohnehin die Reaktion sehr schwach ist. Die Beseitigung dieses Widerspruches würde die maximale Eigenreduktion  $0,00554 \cdot n$  erfordern, so daß 0,006 n bestehen kann.

Man sieht auch, daß z. B. die obige Angabe von Munk, die Eigenreduktion könne 0,4% betragen, im Widerspruch mit diesen Analysen steht, denn diese geben im Maximum 0,2%.

Was die W. Müllersche Probe zum qualitativen Nachweis von Zucker im Harn anlangt, so ist immer der Standpunkt Müllers festzuhalten, daß ihr negativer Ausfall anzeigt, daß kein Zucker oder sehr wenig Zucker vorhanden ist, daß sie aber bei positivem Ausfall nicht notwendig Zucker anzeigt. Bringt man verschiedene, 6 Stunden lang vergorene Urine durch Dextrose auf 0,005; 0,01; 0,02; 0,03; 0,04% Zucker, so zeigt sich, daß die Empfindlichkeit der Probe im allgemeinen zunimmt mit dem spezifischen Gewicht der Urine und daß der positive Ausfall keineswegs an einen Zuckergehalt von mehr als 0,025% gebunden ist, wie Müller behauptet; auch bei 0,005% kann unter Umständen die Probe positiv ausfallen. Dies geht schon rein logisch daraus hervor, daß nach Müller in 7% der von ihm angegebenen Versuche die Probe im zuckerfrei gemachten Urin positiv ausfiel. Diese 7% umfassen Urine von hohem spezifischen Gewicht. Soll die Probe bei positivem Ausfall sicher Zucker anzeigen, so muß sie eine Abänderung auf Grund des spezifischen Gewichtes erfahren, worauf ich in einem besonderen Aufsatz noch zurückkommen werde.

#### **Entfernung der N-haltigen Substanzen mit $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ und nachfolgende Untersuchung auf Dextrose.**

Diese von Patein-Dufau herrührende Methode gestattet nach Schöndorff im Harn die kleinste Menge Zucker nachzuweisen; Schöndorff findet damit, daß jeder normale Harn 0,0105—0,0274% Traubenzucker enthält. Durch diese Entfernung der Stickstoffsubstanzen — bei der der Zucker erhalten bleibt — erhält man ein farbloses Filtrat, das die Fehlingsche Lösung unter Abscheidung von unlöslichem roten  $\text{Cu}_2\text{O}$  reduziert.

Patein und Schöndorff arbeiten mit einer Mercurilösung, die im Liter 324 g wasserfreies Mercurinitrat enthält und durch Auflösen von gelbem  $\text{HgO}$  in  $\text{HNO}_3$  erhalten wird. Patein nimmt 50 ccm Urin + 25 ccm Mercurilösung + so viel Natronlauge, daß die Flüssigkeit, mit Lackmuspapier untersucht, neutral erscheint. Das Ganze wird auf 100 ccm mit Wasser verdünnt und dann filtriert. Die Lauge wird tropfenweise zugesetzt und nach je 5—6 Tropfen läßt man den Nie-

derschlag sich setzen. Man prüft von Zeit zu Zeit die überstehende Flüssigkeit mit Lackmuspapier. Schöndorff hat nachgewiesen, daß 25 ccm Mercurilösung =  $5 \cdot 324$  mg  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  im allgemeinen nicht genügen, und ich kann dies vollauf bestätigen. In 9 unter 10 Fällen fand ich die Menge zu gering. Dies führte Schöndorff dazu, bei jeder einzelnen Analyse zuerst die erforderliche Menge von Mercurilösung durch Tastverfahren festzustellen. Ich nehme dafür eine solche reichliche Menge (mehr als doppelt soviel wie Patein), daß für alle Fälle ein Überschuß vorhanden ist, der sich immer dadurch dokumentiert, daß der Rückstand beim Filtrieren nicht weiß, sondern gelb bis orange ist.

Lösung I. 900 g Hydrargyrum nitr. oxydat., Merck, werden in 150 ccm offic. acid. nitr. (D 1,153) unter Erwärmen gelöst, mit Wasser auf 1 l verdünnt und sodann erwärmt bis zum beginnenden Kochen, wodurch auch die verdünnte Flüssigkeit klar wird und beim Erkalten klar bleibt. Diese Lösung ist nahezu konzentriert, löst man noch mehr Salz, so scheiden sich Krystalle  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ , 8 aq. aus. Das von mir verwendete Salz enthielt etwa 25% aq., also waren im Liter etwa 675 g wasserfreies Mercurinitrat vorhanden.

Lösung II. Natronlauge, von der 10 ccm ebenfalls 10 ccm von I fällen.

10 ccm von I werden mit ca. 30 ccm aq. verdünnt und mit 1 Tropfen Phenolphthalein versetzt. Aus einer Bürette wird NaOH zugefügt bis zur Rotfärbung der über dem Niederschlag sich einstellenden Flüssigkeit (der Niederschlag fällt beinahe spontan zu Boden). Es seien hierzu a ccm NaOH erforderlich. Verdünnt man jetzt 8a der Natronlauge auf 100 ccm, so hat man die gesuchte Lauge, sie ist meist 4,2 normal.

Ist z. B.  $a = 11$  ccm, so hat man 88 ccm Lauge auf 100 ccm zu verdünnen.

Diese Lauge macht das fortgesetzte Prüfen der Flüssigkeit mittels Lackmus unnötig.

Fällt man aus einer Lösung von Mercurinitrat das Quecksilber durch tropfenweisen Zusatz von Lauge aus einer Bürette unter Umschwenken, so erhält man anfänglich weiße basische

Mercurinitrate, dann gelbe, dann orangerote basische Salze, und, wenn schließlich die Lauge bis zur neutralen Reaktion der Quecksilberlösung zugesetzt wird, orangerotes  $\text{HgO}$ . Die Quecksilberlösung, nunmehr mit Phenolphthalein oder Lackmus oder Methylorange versetzt, gibt auf Zusatz eines weiteren Tropfens Lauge die charakteristische Färbung der alkalischen Flüssigkeit.

Eine vollständige Fällung des Quecksilbers ist aber auch bei einem Überschuß von Lauge nicht zu erreichen; vielmehr zeigt sich: setzt man zur Mercurilösung Lauge zu, 1. bis das basische Salz  $3 \text{HgO}$ ,  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  sich gebildet hat, d. h. bis die Flüssigkeit nur noch schwach sauer ist, oder 2. bis die mit Phenolphthalein versetzte Lösung gerade rot wird, d. h. bis die Flüssigkeit schwach alkalisch ist, oder 3. noch mehr Lauge, bis die Flüssigkeit stark alkalisch ist; immer bleibt eine kleine Menge Quecksilber ungefällt, die durch Filtration und Versetzen des Filtrats mit Zinkstaub oder Schwefelwasserstoff beseitigt werden kann. Soll bei der Fällung durch  $\text{NaOH}$  — die ja nach dem Gesagten immer unvollständig ist — die Lösung nahezu neutral sein, was für Zuckerflüssigkeiten erforderlich ist, so wird man also eine solche Menge  $\text{NaOH}$  anwenden, daß sie kleiner ist, als die Bildung von  $\text{HgO}$  erfordert, und größer, als die Bildung von  $3 \text{HgO}$ ,  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ , und dies trifft für die Lauge II zu. Zur Entfernung der N-haltigen Stoffe fügt man zu 50 ccm Urin 25 ccm von Lösung I und schwenkt um, wodurch ein Teil der N-haltigen Stoffe sofort ausfällt, der übrige Teil fällt nach und nach aus, wenn man die freie Salpetersäure durch 25 ccm Lösung II nach und nach abstumpft. Zu dieser Abstumpfung ist also ebensoviel Lauge II erforderlich, wie zum Fällen von 25 ccm reiner Mercurilösung. Die Lauge setzt man unter stetem Umschwenken zu. Man filtriert nun; das Filtrat ist entweder neutral oder annähernd neutral. Der Rückstand — Paste genannt — hält viel Flüssigkeit zurück, ohne Absaugen erhält man nur ca. 25 ccm Filtrat. Der erste Teil des Filtrates läuft klar ab, der zweite Teil in der Regel leicht trübe. Durch einmaligen Wiederaufluß auf den Rückstand erzielt man aber ein klares Filtrat. Nun setzt man auf

25 ccm Filtrat ca. 1 g Zinkstaub. Schüttelt man Zinkstaub und Filtrat mehrere Male, so ist das Filtrat nach 1—2 Stunden quecksilberfrei. Man filtriert nun von neuem. Das Filtrat verhält sich jetzt wie eine reine Zuckerlösung. Bestimmt man durch Titrieren mit alkalischer Kupferlösung seinen Zuckergehalt, so fällt alles Cuprosalz als rotes  $\text{Cu}_2\text{O}$  aus und die im Filtrat gefundenen Prozente Zucker geben mit 2 multipliziert den Zuckergehalt des Urins. Der Zinkgehalt im Filtrat beeinträchtigt die Bestimmung nicht. In der Kupferlösung bildet sich  $\text{Zn}(\text{OH})_2$ , das keine reduzierende Wirkung ausübt und in überschüssigem  $\text{NaOH}$  vollständig löslich wäre. Fügt man beim Titrieren mit je  $2\frac{1}{2}$  ccm des Filtrats diesen  $2\frac{1}{2}$  ccm 1 Tropfen offizineller Natronlauge zu vor dem Zusatz der alkalischen Kupferlösung, so wird der Bildung des  $\text{Zn}(\text{OH})_2$  vollständig Rechnung getragen (mit dem Zusatz eines kleinen Krystalles  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  kurz vor dem Filtrieren erreicht man dasselbe).

**Korrektion für die Umrechnung von einem Teil des Filtrats auf die ursprüngliche Urinlösung.**

Findet man durch Analyse im Filtrat  $p\%$  Zucker, so hat der Urin  $2p\%$  Zucker. An diesen  $2p$  ist aber noch eine kleine Korrektion anzubringen, die, wie mir scheint, von Patein-Dufau außer acht gelassen wurde. Für die Patein-Menge:  $\langle 50 \text{ ccm Urin} + 25 \text{ ccm Mercurilösung [mit } 25 \cdot 324 \text{ mg wasserfreiem } \text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \text{]} + \text{Lauge} + \text{aq.} = 100 \text{ ccm} \rangle$  gestaltet sie sich folgendermaßen:

Die Paste, die beim Filtrieren entsteht, würde getrocknet 0,5 ccm einnehmen. Würde sie nämlich aus lauter  $\text{HgO}$  bestehen, dessen spezifisches Gewicht 11 ist, so wäre ihr Volumen  $\frac{25 \cdot 216}{11} = 0,5 \text{ ccm}$ ; da alle andern unlöslichen Quecksilberverbindungen ein etwas kleineres spezifisches Gewicht besitzen, so ist das Volumen eher etwas größer. Statt 100 ccm Filtrat erhielte man also — wenn alle Flüssigkeit der Paste dem Filtrat einverleibt würde — nur 99,5 ccm Filtrat, die für den Urin gefundenen Prozente geben daher mit 0,995 multipliziert die korrigierten Prozente. Wenn man unsere Mengen:



50 ccm Urin + 25 ccm Mercurisalz mit 25 · 675 mg wasserfreiem  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  + 25 ccm NaOH betrachtet, so sind die gefundenen Prozente mit 1,01 zu multiplizieren, um die korrigierten zu erhalten. Die Mischung der Flüssigkeiten gibt nämlich nicht 100 ccm, sondern etwas mehr. Mischt man 50 ccm aq. + 25 ccm Mercurisalz [mit 25 · 675 mg wasserfreiem  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ ] + 25 ccm NaOH, so erhält man 102 ccm Mischung statt 100 ccm und andererseits würde die getrocknete Paste 1 ccm einnehmen; die vollständige Filtriermenge wäre also 101 ccm statt 100 ccm.

Diese Korrektur fällt natürlich weg, wenn man den Rückstand durch Auswaschen von Zucker befreit, damit vermehrt man aber das Filtrat außerordentlich, und hat es dann mit dem Nachweis von Zucker in sehr verdünnter Lösung zu tun, wo die direkte Anwendung der Analyse von Soxhlet und die quantitative Analyse von Allihn versagt. Schöndorff wascht zum Nachweis kleinster Zuckermengen im Harn den Rückstand wiederholt mit  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  aus, um allen Zucker ins Filtrat zu bringen. Er erhält damit ein großes Filtrat, welches zum Einengen oft 1—2 Tage des Eindampfens und schließlich noch einen künstlichen Zusatz von  $\frac{1}{2}\%$  Dextrose erfordert, um die kleine Menge des ursprünglich vorhandenen Zuckers mit alkalischer Kupferlösung nachzuweisen.

Die Analyse mit Verwendung von  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  in der neuen Form ist aus folgendem Beispiel ersichtlich. Vor Anwendung des Mercurisalzes erhielt man für das auf Zehntelprozente bestimmte Reduktionsvermögen 0,8%, zieht man hiervon 0,2% ab, so erhält man den annähernd sich ergebenden Zuckergehalt; die Hälfte, also 0,3%, war somit annähernd als Zuckergehalt des Filtrats zu erwarten. Man konnte aus diesem Grunde später im Filtrat sofort mit  $2\frac{1}{2}$  ccm Filtrat + ca. 0,5 g Chlornatrium (feste Form) + Kupfermenge für 0,3% + 30 Tropfen B + 1 Tropfen C beginnen. Die Entfernung der N-Substanzen erforderte 50 ccm Urin + 25 ccm I + 25 ccm II. Man filtrierte in eine Stöpfelflasche, setzte ca. 1 g Zinkstaub zu, verschloß die Flasche und schüttelte öfters um. Nach 2 Stunden wurde von neuem filtriert. Vor dem Filtrieren kann man einen

Tropfen der Flüssigkeit in ein Uhrglas geben und mit  $(\text{NH}_4)_2\text{S}$  prüfen, ob das Quecksilber wirklich beseitigt ist.  $2\frac{1}{2}$  ccm des neuen Filtrates ergaben beim Titrieren 0,32%.

Der Zusatz von Mercurilösung führt eine Verdünnung des Urins 1 Vol. = 2 Vol. herbei. Ich habe diese Verdünnung einer weitgehenderen vorgezogen, um auch noch kleine Zuckergehalte von 0—0,1% ohne Einengung direkt bestimmen zu können, und um bestätigen zu können, daß jeder Urin zuckerhaltig ist, und daß bei kohlenhydratreicher Nahrung der Zucker eines Gesunden auf 0,1% steigen kann.

Die Entscheidung, ob sicher Diabetes vorliegt, d. h. ob der Harn mehr als 0,1% Zucker enthält, führe ich mit nur 10 ccm Harn aus. Es werden hierzu 10 ccm Harn + 5 ccm I + 5 ccm II verwendet. Man filtriert in ein Reagenzglas, das Filtrat wird mit ca. 200 mg Zinkstaub versetzt, das Gläschen mit Gummistopfen verschlossen und öfters geschüttelt. Nach 2 Stunden wird wieder in ein Reagenzglas filtriert. Vom Filtrat gibt man mit der Pipette U  $2\frac{1}{2}$  ccm in ein Reagenzgläschen: fügt ca. 0,3 g NaCl und Kupferlösung A für 0,1% Zucker hinzu, kocht sodann 30 Sekunden. Bei normalem Harn wird rotes  $\text{Cu}_2\text{O}$  am Boden niederfallen, die überstehende Flüssigkeit aber schön blau erscheinen. Ist sie nicht mehr blau, sondern farblos oder gelb, so fügt man 10 Tropfen B hinzu und nach dem Umschwenken noch 1 Tropfen von C, erfolgt kein Farbumschlag, so ist Diabetes sicher, erfolgt Farbumschlag in Schokoladebraun, so ist man nicht berechtigt, auf Diabetes zu schließen. Da ein Urin nach Entfernung des Traubenzuckers durch 6stündiges Gären und darauf folgende Entfernung der Stickstoffsubstanzen [durch  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ ], immer noch Substanzen aufweist, welche die alkalische Kupferlösung reduzieren, so erblicke ich in den nachgewiesenen 0,0105 bis 0,0274% und den 0,1% Zucker nicht Zucker allein, sondern Zucker nebst anderen reduzierenden stickstofffreien Substanzen, eine Ansicht, die auch Schulz<sup>1)</sup> vertritt.

<sup>1)</sup> Neubauer-Huppert I, S. 290.