

der sich sofort zu Kalziumhydroxyd umsetzt und so durch Zunahme der Kalziumionenkonzentration die Dissoziation des kohlensauren Kalkes zurückdrängt, die Umsetzungsfähigkeit des letzteren vermindert, so dass die Methode von Bodenbender und Ihlee unter Einhaltung der von ihnen angegebenen Versuchsbedingungen bei einem Gehalt von 40 % Ätzkalk aufwärts bei der Analyse von Düngekalken genügend gute Resultate gibt.

Günstiger liegen die Umstände, wenn man die Ammoniumnitratlösung in der Kälte einwirken lässt. Die Löslichkeit des Kalziumkarbonates in Ammoniumnitratlösungen verschiedener Konzentration entspricht ganz streng den relativen Mengen der aktiven Massen des Ammoniumnitrates, wie eine Vergleichung der experimentellen Daten mit den Forderungen des Massenwirkungsgesetzes ergibt. Ferner zeigt sich, dass die Löslichkeit des Kalziumkarbonates in $\frac{1}{5}$ -normaler Ammoniumnitratlösung bei Zimmertemperatur durch die Gegenwart von Ätzkalk so weit herabgemindert wird, dass wir von einem Gehalt von 8 % Kalziumoxyd aufwärts in Kalziumkarbonat-Oxydgemengen das Karbonat als unlöslich annehmen können. Für die Untersuchung solcher Gemenge ergibt sich folgende Methode:

Bei einem Gehalt von mehr als 8 % Kalziumoxyd werden je nach dem Gehalt an Karbonat, den man leicht in dem Kohlensäure-Bestimmungs-Apparat nach Scheibler feststellen kann, 5—3 g des Gemenges im Rotierapparat bei etwa 40 Umdrehungen in der Minute mit 1 l $\frac{1}{5}$ -normaler Ammoniumnitratlösung 3 Stunden lang geschüttelt und in einem aliquoten Teile der filtrierten Lösung, oder besser nach dem Absetzen des Niederschlages in der herauspipettierten Lösung, wird das Kalziumoxyd wie gewöhnlich durch Ammoniumoxalat gefällt.

3. Auf Physiologie und Pathologie bezügliche Methoden.

Von

K. Spiro.

Nachweis und Bestimmung von Zuckerarten. Traubenzucker. Bezüglich zweier gebräuchlicher Zuckerproben ist es in der letzten Zeit zu einer sehr lebhaft geführten Polemik gekommen. E. Pflüger¹⁾ war vor mehreren Jahren bei einer kritischen Bearbeitung der Methoden

¹⁾ Pflüger's Archiv **105**, 121.

zum qualitativen Nachweis von Traubenzucker im Harn zu dem Ergebnis gelangt, dass die Nylander'sche (Almén'sche) Probe vollkommen unbrauchbar sei und an Zuverlässigkeit durch die Probe von Worm-Müller bei weitem übertroffen werde. Da Hammarsten¹⁾ diesen Untersuchungen keine besondere Beweiskraft zuerkennen konnte, ist daraus eine recht umfangreiche Polemik²⁾ entstanden, die jedoch zum Teil nur Einzelheiten betrifft. Hammarsten's Standpunkt in dieser Frage ist der, dass es wohl das Richtigeste wäre, beide Proben zu verwerfen, da sie auf einem nicht tadellosen Prinzip basieren und durch bessere Proben zu ersetzen seien. Dass die Wismutprobe in vielen normalen Harnen eine positive Reaktion gebe, sei den Klinikern längst bekannt; nach den Erfahrungen von Nylander und Hammarsten komme dies aber ungefähr ebenso oft bei der Worm-Müller'schen Probe vor. Bei positivem Ausfalle sind also die beiden Proben etwa gleichwertig. Bei negativem Resultate wird die Worm-Müller'sche Probe zu umständlich, weil man nur durch Serienproben die Gegenwart von Zucker sicher ausschliessen kann. Unterlässt man es, solche Serienproben zu machen, so kann man mit dieser Probe leicht kleine Zuckermengen übersehen. Aus diesem Grunde gibt Hammarsten der Wismutprobe den Vorzug. Nach Pflüger dagegen ist diese unbrauchbar und wertlos, während mit der Worm-Müller'schen Probe normale Harne niemals positiv reagieren.

Eine neue Methode der Zuckerbestimmung, die J. Bang³⁾ ausgeführt hat, beruht auf folgender Tatsache:⁴⁾ Bekanntlich geht das Kupfer mit Rhodan Verbindungen ein, von denen das weisse Kupfer-rhodanür ganz unlöslich in Wasser und Säure ist, dagegen leicht löslich in Alkalien; es ist deshalb undenkbar, dass man durch Zusatz von Rhodankalium zur Fehling'schen Lösung das Kupferoxydul als Rhodanür ausfällen kann. Dagegen hat Bang gefunden, dass die Ausfällung gelingt, wenn die Lösung keine fixen Alkalien, sondern nur Karbonate enthält. Versetzt man also eine Soldaini'sche Lösung (enthaltend Kupferkarbonat und Kaliumkarbonat)

1) Zeitschrift f. physiol. Chemie **50**, 36.

2) E. Pflüger, dessen Archiv **116**, 265; O. Hammarsten, ebenda **116**, 517; E. Pflüger, ebenda **116**, 533.

3) Biochemische Zeitschrift **2**, 271.

4) Festschrift f. O. Hammarsten. Wiesbaden, Verlag von J. F. Bergmann.

mit Rhodankalium, so scheidet sich bei der Reduktion nicht das rote Kupferoxydul, sondern das weiße Kupferrhodanür aus, und diese Ausscheidung ist quantitativ. Von Vorteil ist ferner, dass das Kupferrhodanür luftbeständig ist, also nicht wieder oxydiert wird, und dass die Soldaini'sche, rhodanhaltige Lösung sich unverändert hält, indem das Kaliumrhodanid keine Selbstreduktion der Kupferlösung herbeiführt. Als Reduktionsmittel für das in Lösung gebliebene Kupferoxyd verwendet J. Bang Hydroxylamin, dessen schwefelsaures Salz, in Wasser gelöst, eine haltbare, allen Anforderungen entsprechende Titerflüssigkeit liefert. Verwendet man einen Überschuss von Rhodankalium, so wird bei der Reduktion kein Kupferrhodanür ausgeschieden. Trotzdem geht die Reduktion wie gewöhnlich fort, bis die Lösung zuletzt ganz farblos und wasserklar wird. Der Überschuss von Rhodankalium hält das gebildete Kupferrhodanür als eine farblose Verbindung in Lösung, dies führt zu dem Vorteil, dass man das Verschwinden der blauen Farbe als Endpunkt der Titration benutzen kann. Die Kupferlösung soll enthalten: 12,5 g nach Soxhlet gereinigtes $\text{CuSO}_4 + 5\text{H}_2\text{O}$, 250,0 g K_2CO_3 (purissimum!), 200,0 g KCNS und 50,0 g KHCO_3 im Liter. Die Lösung wird in der Weise dargestellt, dass Karbonat, Bikarbonat und Kaliumrhodanid zusammen gelöst werden. Man wägt ab und löst im Messkolben die Salze in etwa 600 cc Wasser unter Erwärmen auf 50—60°, man kühlt dann ab bis zirka 30° und lässt langsam das abgewogene Kupfersulfat, in 75 cc Wasser gelöst, einfließen. Die Umsetzung findet ohne Kohlensäureentwicklung statt, wenn nur die Kupfersulfatlösung gut abgekühlt (auf zirka 15°) ist. Die auf 1 Liter aufgefüllte Lösung wird nach 24 Stunden filtriert. Zur Darstellung der Hydroxylaminlösung werden 6,55 g Hydroxylaminsulfat und 200 g Rhodankalium abgewogen, zusammen gelöst und zu 2 Liter genau aufgefüllt. Zur Ausführung der Bestimmung werden mit einer 10 cc Differenzialpipette (ausgewogen!) 10 cc der Zuckerlösung in einen Glaskolben, der zirka 200 cc fasst, eingeführt. Man lässt danach 50 cc der Kupferlösung (= 0,156 g Cu) einfließen, stellt den Kolben auf das Drahtnetz, erhitzt bis zum Kochen und lässt 3 Minuten ruhig sieden. Dann kühlt man rasch ab, bis der Kolben bei Berührung keinen warmen Eindruck macht. Man stellt den Kolben unter eine mit der Hydroxylaminlösung gefüllte Bürette und titriert bis farblos. — Enthält die Zuckerlösung zu viel Zucker, so wird, anstatt die ganze Lösung zu verdünnen, eine geringere Anzahl, zum Beispiel 5 cc oder 2 cc der Zucker-

lösung zugeführt; in diesem Falle muss man aber eine entsprechende Menge Wasser (5 respektive 8 cc) hinzufügen, da man sonst bei der Reduktion zu hohe Werte erhält. 50 cc der Kupferlösung entsprechen zirka 60 mg Zucker (50 mg Dextrose = 0,1376 g Cu). Der Zuckergehalt kann von 0,05 — 3,0 % variieren. Die Grenze der Methode liegt bei zirka 0,1 mg Zucker, ihre Genauigkeit entspricht dem gravimetrischen Verfahren.

Die jedem Milligramm Zucker entsprechenden Werte der Hydroxylaminlösung gibt folgende Tabelle.

Hydroxylaminlösung	Zucker	Hydroxylaminlösung	Zucker	Hydroxylaminlösung	Zucker	Hydroxylaminlösung	Zucker
cc	mg	cc	mg	cc	mg	cc	mg
43,85	5	29,60	19	17,75	33	7,65	47
42,75	6	28,65	20	16,95	34	7,05	48
41,65	7	27,75	21	16,15	35	6,50	49
40,60	8	26,85	22	15,35	36	5,90	50
39,50	9	26,00	23	14,60	37	5,35	51
38,40	10	25,10	24	13,80	38	4,75	52
37,40	11	24,20	25	13,05	30	4,20	53
36,40	12	23,40	26	12,30	40	3,60	54
35,40	13	22,60	27	11,60	41	3,05	55
34,40	14	21,75	28	10,90	42	2,60	56
33,40	15	21,00	29	10,20	43	2,15	57
32,45	16	20,15	30	9,50	44	1,65	58
31,50	17	19,35	31	8,50	45	1,20	59
30,55	18	18,55	32	8,20	46	0,75	60

Zur quantitativen Zuckerbestimmung im Harn hat Rich. Levy¹⁾ Kontrollversuche mit dem Riegler'schen Permanganatverfahren²⁾, der Pavy'schen Methode und dem Polarisationsapparat angestellt und gefunden, dass das Pavy'sche Verfahren der Polarisation beinahe gleichwertig ist, besonders was die Einfachheit der Ausführung betrifft. Die Riegler'sche Methode ist zeitraubender, unzuverlässiger und erfordert einen unbequemen, unhandlichen Apparat. Sie kann insbesondere dem praktischen Arzt wenig empfohlen werden, dem jedoch die Pavy'sche Methode in der Sahli'schen Modifikation³⁾ dringend angeraten wird.

1) Münchener mediz. Wochenschrift 53, 212.

2) Diese Zeitschrift 44, 457.

3) Diese Zeitschrift 45, 397.

Auch nach M. Eiger¹⁾ ist diese sicher und für den Praktiker sehr brauchbar. Nur kurz erwähnt werden mag, dass F. Rosenberger²⁾, in einem Fall von kruppöser Pneumonie das Vorkommen von Maltose, und bei einer anderen Patientin das von Heptose³⁾ wahrscheinlich gemacht hat. Letztere ist wahrscheinlich identisch mit der Laiose, die Leo im Jahre 1887 gefunden hat.

Als eine Modifikation der Trommer'schen Probe empfiehlt K. Simrock⁴⁾ die Anwendung der Hein'schen Lösung, die aus 2,0 g Kupfervitriol, 15 g Wasser, 15 g Glycerin und 150 g 5-prozentiger Kalilauge besteht und lange haltbar ist. Da Chloroform die Reaktion stört, schlägt Simrock vor zur Conservierung von Harn satt dessen besser Glycerin zu verwenden.

Bei der Klärung von Flüssigkeiten für die polarimetrische Bestimmung sind nach H. Grossmann⁵⁾ Lösungen von Bleisalzen ganz besonders zu vermeiden, wenn die Flüssigkeiten alkalisch reagieren, es ist mindestens Essigsäure bis zur deutlich sauren Reaktion hinzuzufügen, wodurch jedenfalls eine Reihe von prinzipiellen Fehlerquellen vermieden wird. Eine genaue chemische Untersuchung der einzelnen optisch aktiven Bestandteile ist natürlich auch bei dieser Klärungsmethode unentbehrlich. A. Wiesler⁶⁾ hat bei der Klärung mit Tonerdehydrat (bereitet durch Fällung von Aluminiumsulfat mit Ammoniak) hinreichend genaue Resultate erzielt.

Einen neuen Apparat zur quantitativen Zuckerbestimmung im Harn beschreiben E. Bendix und A. Schittenhelm⁷⁾, indem sie dabei die kolorimetrische Zuckerprobe von Moore zu Grunde legen. Das Chromosaccharometer »Rapid« (zu beziehen von Hausmann in St. Gallen für 9 Fr. 50 C.) besteht aus einem Standardröhrchen, dessen Farbe der Braunfärbung eines mit gleichen Teilen (10—15 % iger) Natronlauge gekochten 1-prozentigen Zuckerurins entspricht, einem graduierten Reagensglas, einer 5 cc enthaltenden Pipette und einem Stativ. Bei Gegenwart von Zucker werden gleiche Teile Harn und 10—15-prozentiger Natronlauge 1—2 Minuten gekocht und nach dem

1) Deutsche medicin. Wochenschrift **32**, 261.

2) Ebenda **32**, 994.

3) Zeitschrift f. physiol. Chemie **49**, 202.

4) Münchener mediz. Wochenschrift **53**, 865.

5) Biochemische Zeitschrift **1**, 332.

6) Zeitschrift f. angew. Chemie **19**, 1547.

7) Münchener mediz. Wochenschrift **53**, 1309

Erkalten in das kalibrierte Reagensrohr bis zum Teilstrich 5 = 1 0/0 gebracht, Ist die Farbe gleich oder heller als die des Standardröhrchens, so beträgt der Zuckergehalt 1 0/0 oder weniger, ist sie dunkler, so muss entsprechend verdünnt werden, und zwar am besten bereits vor dem Kochen. Die natürlichen Harnfarbstoffe sollen nicht störend wirken, künstliche (nach Arzneimitteln) dagegen sind zu entfernen. Nach Versuchen von B. Kerkhoff¹⁾ differieren die Resultate von den durch Gärung oder Polarisation erhaltenen nur minimal, sind sogar bei gleichzeitiger Anwesenheit linksdrehender Substanzen im Urine (β -Oxybuttersäure) den durch Polarisation gewonnenen Werten an Genauigkeit überlegen. Andere Zuckerarten, zum Beispiel Milchzucker, lassen sich damit nicht auf exakte Weise quantitativ nachweisen.

Den Wert der verschiedenen Farbenreaktionen für den Nachweis der Pentosen hat Fr. Sachs²⁾ untersucht. Für die Bial'sche Probe scheint 0,2 0/0 Pentose gerade die Grenze zu bilden, wo sie noch positiv ausfallen kann. Der Eintritt geschieht aber oft auch sehr zögernd, so dass man bei geringem Prozentgehalt annehmen muss, dass die Probe im Stiche lassen könnte. Wenn sie bei nachträglichem Erhitzen positiv ausfällt, so besagt das nichts, da auch normaler Harn sich dann ebenso verhält. Allerdings ist die Farbe bei den Pentoselösungen reiner. Man wird also bei der Bial'schen Probe nur etwas aussagen können, wenn sie ohne nachträgliches Erhitzen positiv ausfällt. Die Resultate bei der Phlorogluzinprobe und bei der Probe mit Anilinzetatpapier waren wenig befriedigend, da auch in pentosefreien Lösungen Farbentöne auftreten, die den typischen ganz ähnlich sind, so dass also die Möglichkeit einer Verwechslung auf der Hand liegt. Mit der Orzinprobe wurden befriedigende Resultate erzielt; zwar ist der auftretende Farbenton des öfteren unbestimmt, der Absorptionsstreifen war aber bei den mit gepaarten Glykuronsäuren angestellten Proben nicht zu sehen, eine Verwechslung ist also zu vermeiden, wenn man bei Anstellung der Probe nicht zu lange kocht oder nur auf 90—95° erhitzt. Sehr bewährt hat sich die Orzinprobe in der Modifikation von A. Neumann:³⁾ Das Prinzip besteht darin, dass

1) Inaugural-Dissertation Göttingen.

2) Biochem. Zeitschrift 1, 383.

3) Berliner klin. Wochenschrift 41, No. 41, S. 1073. Das Referat für diese Zeitschrift war seiner Zeit bis zum Erscheinen der ausführlichen Arbeit verschoben worden. Leider ist der auch sonst auf analytischem Gebiet sehr verdiente Autor vor wenigen Wochen einer Influenza erlegen.

während der Bildung des Farbstoffs einerseits für das Vorhandensein eines Lösungsmittels desselben gesorgt, andererseits Gegenwart von Wasser bei der Reaktion nach Möglichkeit vermieden wird. Dadurch wird erstens die Probe verschärft, zweitens wird dadurch eine Differenzierung der Farbe bei Gegenwart verschiedener Zuckerarten bewirkt. Die Reaktion wird in folgender Weise ausgeführt: 10 Tropfen der zu prüfenden Lösung werden in einem Reagensglas mit 5 cc 99-prozentigem Eisessig und einigen Tropfen einer 5-prozentigen, alkoholischen Orzinlösung versetzt und nach Umschütteln bis zum völligen Sieden erhitzt. Während das Reagensglas im Halter gehalten wird, setzt man dann tropfenweise unter Umschütteln konzentrierte Schwefelsäure zu, bis ein deutlicher Farbenton bestehen bleibt. Mehr als 50 Tropfen sind dazu in keinem Falle nötig, können vielmehr Zersetzung und unreine Farbentöne hervorrufen. Auf diese Weise gibt Arabinose Violettfärbung, sowie im Spektrum einen Streifen rechts von D, der gelb und gelbgrün bedeckt; Xylose: Violettfärbung, sowie 2 Streifen, einen rechts von C im Orange, einen zweiten wie bei Arabinose; Glykuronsäure: Grün- respektive Grünblaufärbung, einen Streifen links von C im Rot; Glukose Braunrotfärbung, sowie einen Streifen rechts von E im Grün. Bei nachträglichem Wasserzusatz bleibt die Farbe bei den Pentosen und der Glykose unverändert, während sie bei Glykuronsäure rötlich wird. Nach F. Sachs ist die Reaktion nach A. Neumann für Pentosen äusserst empfindlich und deren Auffindung in einwandfreier Weise ermöglicht. Allerdings sind die Unterschiede bei Arabinose und Xylose nicht sehr deutlich und eine Verwechslung der beiden nicht ausgeschlossen. Der Hauptwert ist jedoch auf den intensiven Absorptionsstreifen rechts von D zu legen. Bezüglich der Jolles'schen Probe kam Sachs zu abweichenden Resultaten: auch er erhielt bei Verarbeitung von grösseren Mengen von Pentosazon im Destillat ein Derivat der Kohlenhydrate, das mit Bial's Reagens Grünfärbung lieferte, vermisste es aber bei der Verarbeitung von pentosehaltigen Harnen, so dass ihm die Methode für die Praxis nicht brauchbar zu sein scheint.

In Entgegnung hierauf hat A. Jolles¹⁾ die gute Brauchbarkeit seiner Methode hervorgehoben und empfiehlt sie in folgender Ausführung: 15 cc Harn werden in einem Reagensglas mit 1 g salzsaurem Phenylhydrazin und 2 g Natriumazetat versetzt, umgeschüttelt und im kochenden

1) Biochem. Zeitschrift 2, 243.

Wasserbade eine Stunde belassen. Hierauf wird das Reagensglas zwei Stunden in kaltem Wasser stehen gelassen, wobei es sich empfiehlt, das Wasser mehrmals zu wechseln. Nunmehr wird der Niederschlag über Asbest in einem kleinen Trichterchen in bekannter Weise filtriert und dann mit 3—4 *cc* kaltem Wasser gewaschen. Den Asbest samt Niederschlag bringt man in ein Destillierkölbchen von etwa 50 *cc* Inhalt, und zwar am besten in ein solches, welches bei der fraktionierten Destillation Verwendung findet, und dessen am Halse angeschmolzenes Abflussrohr etwa 27 bis 30 *cm* lang ist. Den Niederschlag spült man mit 20 *cc* Wasser und 5 *cc* Salzsäure (spezifisches Gewicht 1,19) hinunter, verschliesst das Kölbchen dicht und destilliert unter Kühlung 5—6 *cc* in ein Reagensglas ab. Von diesem Destillate wird die Hälfte mit zirka 6 *cc* Bial'schem Reagens gekocht, worauf bei einem Pentosegehalt von 0,05 % eine so deutliche Grünfärbung resultiert, dass ein Zweifel über den positiven Ausfall der Probe vollkommen ausgeschlossen erscheint. Die Methode ist für Pentosen charakteristisch, indem Glykuronsäure in den Quantitäten, wie solche für Harn in Frage kommen, sowie Hexosen einen negativen Ausfall der Probe bedingen. F. Sachs¹⁾ hat mit dieser Methode bei Verwendung 1-prozentiger Xylose- und Arabinoselösung intensive Grünfärbung und Absorptionsstreifen im Spektrum beobachtet, ebenso auch bei einer 1-prozentigen Lösung von Glykuronsäure. Mit 0,2-prozentigen Arabinose- und Xyloselösungen waren die Ausschläge hingegen gering, die Lösungen zeigten konstant ganz wenig grünlichen Schimmer, ebenso ein Lysölharn. Die Möglichkeit einer Verwechslung mit gepaarter Glykuronsäure ist zu bedenken.

Für den Nachweis der Laevulose im Harn führt A. Jolles²⁾ die Seliwanoff'sche Reaktion in der Art aus, dass er 10 *cc* Harn mit einer Messerspitze voll Resorzin und etwa 3 *cc* 10-prozentiger Salzsäure bis zum Kochen erhitzt; eine sofort auftretende Rotfärbung weist auf Laevulose hin. Bei der quantitativen Bestimmung hat sich, wenn der Harn nicht mehr als 0,2 % Laevulose enthält, die Methode von Ost am besten bewährt.

1) Biochem. Zeitschrift **2**, 245.

2) Archiv d. Pharm. **244**, 592.