(Physiologisches Laboratorium in Bonn.)

Ueber die Zuverlässigkeit der Zuckerproben von Hammarsten-Nylander und Worm-Müller.

Von

Eduard Pflüger.

Bei meinen Untersuchungen über Diabetes wurde es nothwendig, die von O. Minkowski¹⁾ aufgestellte Behauptung zu prüfen, dass „vorübergehende Glykosurien nach allen möglichen länger dauernden chirurgischen Operationen“ beobachtet werden. Wie aus dem grossen Lehrbuch von R. Neumeister²⁾ hervorgeht, glaubte man ziemlich allgemein an die Auffassung von O. Minkowski. Da die Schlussfolgerungen aus dieser Annahme von grosser Bedeutung für die Erklärungen des Diabetes erscheinen, habe ich es für geboten erachtet, im Verein mit meinen Mitarbeitern, den Herren Prof. Dr. Bernhard Schöndorff und Oberarzt Dr. Friedrich Wenzel³⁾, eine umfassende experimentelle Prüfung auszuführen. Sämmtliche chirurgische Kliniken sowie die gynäkologische Klinik Bonns haben uns reichliches Material geliefert, wobei auch die durch Unfall bedingten Verletzungen mit berücksichtigt wurden. Es kamen zur Beobachtung 144 Fälle. Das Ergebniss der ganzen Untersuchung bestand darin, „dass der chirurgische Eingriff „an sich trotz Anwendung der Narkose keine Glykosurie erzeugt“.

Indem wir uns die Frage vorlegten, wie es komme, dass so viele Forscher so sehr getäuscht worden sind, mussten wir zunächst

1) O. Minkowski, Untersuchungen über den Diabetes mellitus nach Exstirpation des Pankreas. Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. Bd. 31. Sonderabdruck.

2) R. Neumeister, Physiol. Chemie 1897 S. 329 und 751.

3) Ueber den Einfluss chirurgischer Eingriffe auf den Stoffwechsel der Kohlehydrate und die Zuckerkrankheit. Von Prof. Dr. Eduard Pflüger, Prof. Dr. Bernhard Schöndorff und Oberarzt Dr. Friedrich Wenzel. Dies Archiv Bd. 105 S. 121. 1904.

die von uns festgestellte Thatsache in Betracht ziehen, dass allerdings nach chirurgischen Eingriffen der Harn öfter viel grössere Mengen reducirender Substanz enthält, als sie beim Gesunden vorkommen. Es handelt sich aber nicht um Zucker. Solche Harne geben oft genug die Trommer'sche Probe mit Ausscheidung so grosser Mengen gelben Kupferoxyduls, dass die Flüssigkeit ganz undurchsichtig wird und allmählich einen gelbröthlichen Satz abscheidet.

Indem wir demgemäss zu einer kritischen Bearbeitung der gebräuchlichen Zuckerproben übergingen, prüften wir besonders die Reactionen von Nylander-Hammarsten und von Worm-Müller. Beide Proben werden bekanntlich besonders zum Nachweise kleiner Zuckermengen gerühmt. Wir gelangten zu dem Ergebniss, dass die Reaction von Nylander-Hammarsten vollkommen unbrauchbar sei und an Zuverlässigkeit durch die Probe von Worm-Müller bei Weitem übertroffen werde. Im Gegensatz hierzu hatte Hammarsten früher das ausgezeichnete Verfahren von Worm-Müller für die ärztliche Diagnose verworfen, seine Methode — die sogenannte Nylander-Hammarsten'sche, auf das Wärmste empfohlen. — Da die Untersuchung Nylander's unter Hammarsten's Leitung ausgeführt ist, halte ich diese Bezeichnung für richtig, obwohl Hammarsten jetzt dagegen Einsprache erhebt.

Meine Ausführungen haben nun Olof Hammarsten soeben zu einer Entgegnung¹⁾ veranlasst, in der er die Aerzte vor meinen Methoden warnt.

Hammarsten will also, dass als zuverlässige Zuckerprobe die Reaktion von Nylander-Hammarsten empfohlen, die von Worm-Müller verworfen werde.

Die von Nylander²⁾ vorgeschriebene Lösung ist: 4 g Seignettesalz gelöst in 100 g Lauge von 8 % Na_2O . Erwärmen mit 2 g basischem Wismuthnitrat und Filtration. 10 Volumina Harn mit 1 Volum dieser Lösung sollen 2 bis 5 Minuten im Sieden erhalten werden. Hammarsten³⁾ sagt: „Bei Gegenwart von nicht sehr „kleinen Zuckermengen wird dabei der Harn erst dunkler gelb oder

1) Olof Hammarsten, Vergleichende Untersuchungen über den Werth der Almén'schen Wismuthprobe und der Worm-Müller'schen Kupferprobe bei der Untersuchung des Harns auf Zucker. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 50 S. 36. 1906.

2) E. Nylander, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 8 S. 177. 1884.

3) Olof Hammarsten, Lehrb. d. physiol. Chemie, 6. Aufl., S. 654. 1907.

„gelbbraun. Dann wird er immer dunkler, trübt sich, wird schwarzbraun oder fast schwarz und undurchsichtig. Nach kürzerer oder längerer Zeit setzt er einen schwarzen Bodensatz ab, die obenstehende Flüssigkeit klärt sich allmählich, bleibt aber gelb oder gelbbraun gefärbt. Bei Gegenwart von nur sehr wenig Zucker wird die Harnprobe nicht schwarz oder schwarzbraun, sondern nur dunkler gefärbt, und bisweilen sieht man erst nach längerer Zeit am oberen Rande des Phosphatniederschlags einen dunklen oder schwarzen feinen Saum von (Wismuth?).“

Dem gegenüber ist nun das Todesurtheil über diese Methode schon lange durch die Wahrheit besiegelt, dass normale Harne oft genug die Nylander-Hammarsten'sche Probe geben. In unserer früheren Arbeit hob ich¹⁾ hervor: „Denn schon 1890 hatte F. Moritz²⁾ und 1892 K. Kistermann³⁾ in besonders umfassender Weise den vielfachen Nachweis geliefert, dass die Nylander'sche Probe auch mit vergohrenem Harn gelingt.“ Kistermann erhielt bei der Untersuchung von 261 Harnen 13 Mal die Nylander-Hammarsten'sche Probe, ohne dass die reducirende Substanz durch Gährung zum Verschwinden gebracht werden konnte. Kistermann erhielt sie sechs Mal unter 25 Fällen vergohrenen normalen Harnes. Nach Daiber⁴⁾ und Glan⁵⁾ geben die Probe solche Harne, welche grössere Mengen von Indican enthalten. E. Salkowski⁶⁾ sagt mit Bezug auf das Nylander'sche Reagens: „Manche concentrirte Harne färben sich indessen schwärzlich, ohne Zucker zu enthalten; ebenso chrysophansäurehaltige.“ Ein an Uroerythrin oder Hämatoporphyrin reicher Harn kann, wie Buchner⁷⁾ zeigte, die Nylander-Hammarsten'sche Probe vortäuschen. Nach J. Müller gibt jeder

1) E. Pflüger, B. Schöndorff und Fr. Wenzel, dies Archiv Bd. 105 S. 125. 1904.

2) F. Moritz, Arch. f. klin. Med. Bd. 46 S. 266. 1890.

3) K. Kistermann, Arch. f. klin. Med. Bd. 50 S. 423. 1892.

4) A. Daiber, Corresp. Schweizer Aerzte Bd. 24 S. 38. — Jahresbericht für Thierchemie 1894 S. 261. — Chem. Centralblatt Bd. 2 S. 309. 1895. — H. Huppert, Analyse des Harns S. 120. 1898.

5) R. Glan, Deutsche med. Zeitung Bd. 16 S. 689. — Chem. Centralblatt Bd. 2 S. 694. 1895.

6) E. Salkowski, Praktikum S. 181. 1900.

7) G. Buchner, Münchener med. Wochenschr. Bd. 41 S. 991. — Zeitschr. f. anal. Chemie Bd. 35 S. 119.

normale Harn diese Probe, nachdem er durch Eindampfen etwas stärker concentrirt worden ist.

Es ist also unbestreitbar, dass viele zuverlässige Beobachter das häufige Eintreten der Nylander-Hammarsten'schen Reaction mit Harnen bezeugen, die sicher durch Gährung zuckerfrei gemacht waren. Ich habe mich damit nicht begnügt, sondern eingehend das Verhalten sicher normaler Harne gegen das Nylander'sche Reagens geprüft, und zwar mit dem Ergebniss, dass mehr als die Hälfte der normalen Harne die Nylander-Hammarsten'sche Reaction geben. Diesen Thatsachen gegenüber sucht sich nun O. Hammarsten mit der Einrede zu helfen, dass ich die Reaction nicht nach Vorschrift ausgeführt hätte. Diese Einrede kann nur richtig beurtheilt werden, wenn man die Natur der in Betracht kommenden Reaction genauer prüft.

E. Nylander und noch neuerdings O. Hammarsten schreiben vor, den Harn mit der alkalischen Wismuthlösung 2 bis 5 Minuten zu kochen. O. Hammarsten¹⁾ sagt neuerdings: „Nach der ursprünglichen Vorschrift erhitzt man über offener Flamme einige Minuten. Eine bestimmte Zeit, während welcher man kochen soll, hat weder Almén noch Nylander angegeben. Man findet aber in dem Aufsätze des letzteren, dass er, um die Empfindlichkeit der Probe unter verschiedenen Verhältnissen zu prüfen, 2 bis höchstens 5 Minuten gekocht hat.“ Hammarsten²⁾ kocht selbst bei Prüfung der Methode 2 bis 5 Minuten im Reagensglas.

Gegen dieses Verfahren machte ich³⁾ bereits früher geltend: „Dieses Kochen ist aber nicht ausführbar, ohne dass durch fortwährendes Stossen der Flüssigkeit Theile derselben herausgeschleudert werden. Wir haben alle möglichen Kunstgriffe, auch den Platindraht, ohne befriedigendes Ergebniss angewandt.“ Ferner, „dass das Kochen dieser fortwährend stossenden Mischung öfters 5 Minuten fortgesetzt werden muss, wobei immer der Tisch und auch die Hände von der siedenden spritzenden Lauge angeätzt werden, dürfte doch nicht zu der Behauptung Hammarsten's berechtigen, dass diese Methode Nylander's einfacher und leichter für den

1) O. Hammarsten, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 50 S. 58. 1906.

2) Hammarsten, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 50 S. 60.

3) E. Pflüger, B. Schöndorff, Fr. Wenzel, dies Archiv Bd. 105 S. 129 und 131.

„praktischen Arzt zu handhaben sei als die Methode von Worm-„Müller.“ Deshalb ging ich zu der von Luther¹⁾ empfohlenen und auch von Huppert anerkannten Abänderung der Methode über. Wir bedienten uns einer Kupferplatte, in welcher sich mehrere Reihen runder numerirter Löcher befanden, die so weit waren, dass man die gewöhnlichen Reagentgläser in sie stecken konnte, ohne dass sie durchfielen. Nachdem dieselben mit Harn und der Nylander'schen Lösung beschickt sind, versenkt man die Reagentgläser in das Bad, indem man durch einen Halter die Kupferplatte in geeigneter Höhe über dem siedenden Wasser feststellt²⁾.

Olof Hammarsten ist nun mit dieser Modification der Methode nicht einverstanden, begründet aber seinen Einspruch in einer Weise, welche mir jetzt die Ursache der bei den verschiedenen Verfahrensarten auftretenden verschieden starken Schwärzung bei der Reaction klargemacht hat. Hammarsten³⁾ sagt in seiner letzten Abhandlung: „Ich würde gewiss nicht diese Probe für den „Arzt empfohlen haben, wenn die Schwierigkeiten wirklich so grosse „wären, wie Pflüger behauptet. Nach meiner Erfahrung ist dies „aber nicht der Fall, und die angedeuteten Schwierigkeiten sind „ohne besondere Kunstgriffe leicht zu vermeiden. Ich führe die „Probe in der Weise aus, dass ich, sobald die Flüssigkeit in starkes „Sieden gerathen ist, die Flamme sehr stark vermindere oder das „Kochen über einer zweiten, sehr kleinen Flamme (oder an der Seite „einer Flamme) fortsetze. Wenn man ein nicht zu enges Rohr wählt, „dasselbe etwas oberhalb der kleinen Flamme hält und leise bewegt, „kann man das Kochen nicht nur 5 Minuten, sondern viel länger „ohne Schwierigkeit fortsetzen (man soll natürlich kein zu weites „Reagentglas nehmen, weil die Flüssigkeit in dem Falle während „des Kochens zu stark concentrirt wird). — — Es ist vielleicht ein „Fehler, dass ich in meinem Lehrbuche diese kleinen Vorsichts- „maassregeln nicht angegeben habe; ich betrachtete dies aber als „überflüssig.“

Hammarsten theilt nun einige vergleichende Versuche mit. Es wird entweder 2,5 bis 5 Minuten im Reagentglas gekocht oder im siedenden Wasserbad 15 bis 30 Minuten digerirt.

1) E. Luther, Vorkommen von Kohlehydraten im normalen Harn S. 17. Inaugural-Dissert. d. Universität Freiburg i. Br. 1890.

2) E. Pflüger, B. Schöndorff, Fr. Wenzel. Dies Arch. Bd. 105 S. 129.

3) Olof Hammarsten, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 50 S. 61.

Als Ergebniss hebt Hammarsten hervor: „Die nun mitgetheilten 25 Versuche, zu denen ich noch 15 andere fügen könnte, zeigen ganz deutlich, dass ein Erhitzen im Wasserbade von 15 bis 30 Minuten nicht gleichwerthig mit dem Sieden über offener Flamme 2 bis 5 Minuten ist. Mit der Pflüger'schen Modification erhält man positive Resultate in mehreren Fällen, wo die nach Vorschrift richtig ausgeführte Probe ein vollständig negatives Resultat gibt. Es ist also nunmehr nicht schwer zu verstehen, warum Pflüger in mehr als der Hälfte aller untersuchten Harne mit der Wismuthprobe ein positives Resultat erhielt.“ Hammarsten gibt also zu, dass bei meinem, doch auch von Huppert gebilligten Verfahren die meisten normalen Harne die Nylander'sche Zuckerprobe geben. „Es rührt dies,“ fährt Hammarsten fort, „daher, dass er die Probe nicht nach Vorschrift ausgeführt hat. Unter solchen Umständen können aber seine Untersuchungen keine Schlüsse bezüglich des Werthes der richtig ausgeführten Probe gestatten.“ Die Nichtigkeit dieser Beschuldigungen soll sofort durch folgende Versuche bewiesen werden:

I. Digestion im siedenden Wasserbad während 15 bis 30 Minuten bedingt bei der Nylander-Reaction eine stärkere Schwärzung als Erhitzung über offener Flamme im Reagensglase, das mit der Hand gehalten wird.

II. Kochen in einem sehr kleinen Erlenmeyer'schen Kölbchen mit Benutzung des Platindrathes über kleiner offener Flamme und Asbestnetz bringt in 5 Minuten eine fast ebenso starke Schwärzung hervor, wie die Digestion im siedenden Wasserbad während 15 bis 30 Minuten. Bei diesem Versuche im Erlenmeyer'schen Kölbchen muss man ein grösseres Flüssigkeitsvolum erhitzten.

III. Stellt man das in der Hand gehaltene, während 5 Minuten über der offenen Flamme erhitzte Reagensglas nachträglich 15 bis 30 Minuten in das siedende Wasserbad, so tritt dieselbe starke Schwärzung ein, als wäre die Reaction von vornherein nur im siedenden Wasserbad vollzogen worden.

Daraus folgt, dass der verschiedene Grad der Schwärzung entsprechend der Dauer und Intensität der Erhitzung nur verschieden weit vorgeschrittene Grade der Reduction anzeigt. Die Vergleichung der drei obigen Versuche beweist, dass die geringere Schwärzung beim Reagensglasversuch durch geringere Dauer und Intensität der Erhitzung bedingt sein muss. Denn jetzt gesteht ja Hammarsten

selbst ein, dass auch er gar nicht nach Vorschrift „über der offenen Flamme gekocht“ hat. „Neben die Flamme“ hält er das Reagensglas oder „kocht“ auch über einer anderen sehr kleinen Flamme. Dabei will er beliebig lange das „Kochen“ ohne Stossen fortsetzen können. Demgegenüber sage ich, dass mir wirkliches 5 Minuten fortgesetztes Kochen ohne Stossen und Spritzen mit dieser Flüssigkeit niemals gelungen ist. Da nun bei Hammarsten's Verfahren alle möglichen Gradationen der Erhitzung vorkommen werden, und da ich durch den Versuch mit dem sehr kleinen Erlenmeyer'schen Kölbchen bewiesen habe, dass bei 5 Minuten dauerndem wirklichem Kochen über der Flamme eine eben so starke Schwärzung als bei der 15 bis 30 Minuten dauernden Digestion im Wasserbade eintritt, so müssen auch bei dem Reagensglasversuche positive Ergebnisse mit normalen Harnen erzielt werden. Hammarsten¹⁾ gibt das ja auch thatsächlich verclausulirt zu, wie aus folgender Darstellung desselben hervorgeht.

„Das für die Reaction Typische ist dabei nicht eine Farbenänderung der Flüssigkeit, sondern das Auftreten eines schwarzen oder bei Gegenwart von viel Erdphosphaten fast (!!) schwarzen Phosphatsedimentes, wenn man die Probe nach beendetem Kochen 5 Minuten ruhig stehen lässt und erst nach dieser Zeit beobachtet. Eine etwas dunklere (?!) Färbung des Harnes während des Kochens oder die Entstehung einer grauen (!) missfarbigen oder röthlich braunen Phosphatfällung darf nicht als eine typische Reaction aufgefasst werden. Sollte der Arzt die Reaction etwas zweideutig finden“ — (hier spricht das böse Gewissen die Wahrheit unvorsichtiger Weise aus. Ref.) — „oder wenn er wissen will, ob die Reaction einem Zuckergehalte, welcher oberhalb der physiologischen Grenze liegt, entspricht, so hat er nur den Harn mit dem gleichen Volumen eines anderen nicht reducirenden Harnes zu verdünnen und die Kochprobe zu wiederholen. Bleibt nun die Reaction aus, so kann er den Harn als praktisch zuckerfrei betrachten; fällt sie dagegen positiv aus, so muss man nöthigenfalls, wie bei allen Reductionsproben, eine passende Controllprobe ausführen.“ Man sieht, dass auch bei Hammarsten's Verfahren eine Schwärzung normalen Harnes auftritt. Er muss also einen bestimmten Grad der Schwärzung willkürlich annehmen, von dem ab er die Reaction als positiv ansieht, und es ist doch

1) Olof Hammarsten, Zeitschr. f. physiolog. Chem. Bd. 50 S. 63.
E. Pflüger, Archiv für Physiologie. Bd. 116.

nicht zu leugnen, dass die von dem Zuckergehalt nicht abhängige wechselnde Menge der mit dem schwarzen Wismuth ausgeschiedenen weissen Erdphosphate bei gleichem Zuckergehalt die graue Farbe des Niederschlages bald heller bald dunkler erscheinen lassen muss.

Hammarsten's Beschuldigung, dass ich nicht nach Vorschrift verfahren habe, ist also widerlegt durch folgende Gründe:

1. Nicht durch längere 15 bis 30 Minuten dauernde Digestion im siedenden Wasserbade, sondern durch 3 bis 5 Minuten fortgesetztes Kochen über offener Flamme soll nach Hammarsten die Nylander'sche Reaction ausgeführt werden. Ich habe¹⁾ nun nicht bloss im Wasserbad, sondern auch im kleinen Erlenmeyerschen Kölbchen durch 5 Minuten dauerndes Sieden über der Flamme die Schwärzung normaler Harne erzielt. Dieser wichtige Versuch ist bereits in unserer früheren Abhandlung S. 130 angeführt, aber von Hammarsten nicht berücksichtigt.

2. Ich habe gezeigt, dass die grössere Schwärzung bei Digestion der Nylander'schen Lösung im siedenden Wasserbad nur durch die längere Dauer der Erhitzung bedingt ist. Nun sagt doch O. Hammarsten²⁾ selbst in seiner letzten Abhandlung: „Eine „bestimmte Zeit, während welcher man kochen soll, hat weder „Almén noch Nylander angegeben.“ Die von mir ausgeführte längere Erhitzung im siedenden Wasserbade widerstreitet also nicht den Vorschriften Nylander's. Jetzt aber wird von Hammarsten die Zeit als letzter Rettungsanker hervorgehoben. Wir sahen: umsonst!

3. Ich habe aus den Worten Hammarsten's bewiesen, dass er selbst die Reaction nicht nach seiner Vorschrift auszuführen vermag. Denn er gesteht ja, dass er öfter das Reagensglas mit der Nylander'schen Lösung nicht über offener Flamme kocht, sondern nur neben die Flamme hält. Dass diese Abänderung eine sehr viel geringere Erhitzung bedingt, als wenn „über der offenen Flamme“ vorschriftsmässig „gekocht“ wird, kann doch Niemand bezweifeln. Ich darf also Hammarsten mit Recht den Vorwurf zurückgeben, den er mir macht. Seine Versuche beweisen Nichts, weil sie nicht nach den Vorschriften Hammarsten's ausgeführt sind, deren Befolgung er von Anderen verlangt.

1) E. Pflüger, B. Schöndorff, Fr. Wenzel, dies Arch. Bd. 105 S. 130.

2) O. Hammarsten, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 50 S. 58.

Ich wende mich jetzt zur Vertheidigung der Probe von Worm-Müller. Auch hier hebt Hammarsten, wie bei der Nylander'schen Probe, ohne Spur von Berechtigung hervor, dass ich die Probe nicht nach Vorschrift ausgeführt hätte. Da ich so günstige Resultate mit der Probe von Worm-Müller erzielte, könnte man mir doch keinen Vorwurf machen, wenn sie von mir modificirt worden wäre.

Es ist aber unwahr, dass ich die Worm-Müller'sche Reaction nicht richtig und im Geiste von Worm-Müller ausgeführt habe. Die Abweichungen von der Vorschrift, welche mir Olof Hammarsten vorwirft, sind die grössten Entstellungen der Wahrheit, welche er dazu benutzt, um meine Arbeiten zu verdächtigen. Unklarheit in der Darstellung meiner Ansichten kann mir Niemand vorwerfen, und es wird mir schwer, jene Entstellungen meiner Methoden durch Missverständnisse zu erklären.

Da ich die Vortrefflichkeit der Worm-Müller'schen Probe so entschieden und wiederholt bezeugt habe, muss doch Jeder annehmen, dass ich die von diesem Forscher gegebenen Vorschriften auch da beachtet habe, wo ich es nicht besonders hervorgehoben, weil es eben selbstverständlich ist. Jeder Leser muss ferner voraussetzen, dass ich etwaige Abweichungen von der Vorschrift nicht verschweige, sondern erwähne und rechtfertige. Nirgends hat Olof Hammarsten dem Rechnung getragen.

Ich darf mich nicht mit dieser allgemeinen Andeutung begnügen. Ich will deshalb mein Verfahren bei Anstellung der Worm-Müller'schen Probe jetzt etwas ausführlicher darlegen und die Entstellung Hammarsten's Jedem beweisen.

Ich führe die Probe in folgender Art aus, welche genau mit Worm-Müller's Vorschrift übereinstimmt, wie sich Jeder überzeugen kann, der in diesem Archiv Bd. 27 S. 112 die Worte dieses Forschers vergleicht: Von zwei neben einander stehenden Büretten enthält die eine 2,5 %ige Lösung von Kupfersulfat, die andere eine Lösung, die 10 % Seignettesalz und 4 % NaOH enthält. — In ein Reagensglas misst man nun je nach den Umständen 1 bis 3 ccm Kupfersulfatlösung und fügt 2,5 ccm alkalischer Seignettesalzlösung hinzu. In ein zweites Reagensglas misst man 5 ccm eiweissfreien Harnes. Beide Reagensgläser erhitzt man gleichzeitig über zwei dicht neben einander stehenden Flammen zum Kochen. Das Kochen wird bei beiden Flüssigkeiten gleichzeitig unterbrochen und dann genau 20 bis 25 Secunden gewartet, ehe man die Kupferlösung in den Harn giesst. Ist kein Zucker da, so bleibt die Flüssigkeit blau

und durchsichtig oder verfärbt sich allmählich bald mehr bald weniger, bis zum dunklen Rothbraun. Es kommen betreffend den Grad der Entfärbung alle möglichen Uebergänge vor. Der Abschluss der Reaction darf erst nach Verlauf von etwa 12 Stunden eingenommen werden. Worm-Müller verlangt nur 10 Minuten. Nach meinen Erfahrungen ist das viel zu wenig. — Diese Entfärbung tritt auch in ausgezeichneter Weise bei Harnen ein, welche sicher keine Spur Zucker enthalten, weil man dieselben der 48 stündigen Gährung unterworfen hat. Vor und nach der Gährung wird dieselbe Entfärbung beobachtet. Wesentlich ist, dass bei Abwesenheit von Zucker **keine Ausscheidung von Kupferoxydul** beobachtet wird, wenn die Entfärbung auch sehr stark ist.

Wenn Zucker vorhanden ist, scheidet sich Kupferoxydul in Substanz aus und kann durch seine rothgelbe Farbe leicht erkannt werden. Hier tritt sofort der erste grosse Vorzug der Probe von Worm-Müller uns scharf entgegen. Die Probe von Nylander-Hammarsten besteht darin, dass sich ein schwarzes Pulver abscheidet; diese Abscheidung wird durch sehr viele verschiedene Stoffe des Harnes hervorgerufen, gelingt also ausgezeichnet auch bei Abwesenheit des Zuckers. Die Probe von Worm-Müller besteht darin, dass sich rothes Kupferoxydul abscheidet, und dies geschieht nur dann, wenn der Harn Zucker enthält.

Mir ist unter Hunderten von vergohrenen Harnen niemals ein solcher vorgekommen, der die Worm-Müller'sche Probe gab. Ein zweifelhaftes Ergebniss erhielt ich einmal bei dem Harn eines Carcinomatösen, über den wir¹⁾ in der früheren Arbeit ausführlich berichtet haben. Verschweigen darf ich nicht, dass Worm-Müller²⁾ unter 60 normalen Harnen vier antraf, welche auch nach der Gährung mit Hefe die Probe gaben. Da das Ergebniss bei diesen vier Harnen ein wechselndes war und bei längerer Beobachtung verschwand, glaube ich, dass die Erklärung dieser Ausnahmen ihren Grund in der von Worm-Müller angewandten ungenügend wirksamen Hefe hat. Er versäumte auch, durch den Controllversuch sich zu überzeugen, dass diese Hefe eine wässrige Zuckerlösung in Zeit von 48 Stunden vollständig so vergährt, dass die Flüssigkeit die Probe

1) Dies Archiv Bd. 105 S. 134 u. 148.

2) Worm-Müller, Der Nachweis des Zuckers im Harn mittelst Kupfersulfat u. s. w. Dies Arch. Bd. 27 S. 110.

von Worm-Müller nicht mehr gibt. Es wäre aber auch denkbar, dass in manchen Harnen antidiastatisch wirkende Stoffe vorkommen, welche die Gährung beeinträchtigen. Deshalb beweisen die Annahmen von Worm-Müller, die meinen Erfahrungen widersprechen, keineswegs, dass die Worm-Müller'sche Probe auch mit absolut zuckerfreien Harnen gelingt. Verschiedene Hefearten verlieren ihre Gährkraft sehr verschieden schnell. Die Bäckerei von Schraut in Bonn, von der ich meine Hefe beziehe, erhält jeden Tag frische Hefe aus der Fabrik. Stets benutzen wir nur die soeben frisch angekommene Hefe, und ich habe mich oft gewundert, dass die hiermit in 48 Stunden vergohrenen Zuckerlösungen auch nicht die Spur einer Zuckerreaction mehr gaben. Worm-Müller¹⁾ gibt selbst an, dass sein Polarisationsapparat nicht mit Sicherheit 0,1 bis 0,2 % Zucker im Harne anzeigt, und auch ich kann bestätigen, dass die Probe von Worm-Müller an Empfindlichkeit den besten Polarisationsapparat erheblich übertrifft.

Vor der Hand ist also kein Grund zu der Annahme vorhanden, dass die Probe von Worm-Müller auch ohne Gegenwart von Zucker im Harne gelinge.

Untersuchen wir nun mit dieser Reaction zuerst eine wässrige Lösung von Traubenzucker.

Enthält die Lösung mehr als 0,1 % Dextrose, so scheidet sich fast sofort das Kupferoxydul mit seiner schönen charakteristischen Farbe aus, wenn man 20 Secunden nach dem Kochen die beiden Worm-Müller'schen Flüssigkeiten mischt. Die Reaction ist noch deutlich bis 0,01 % Dextrose, ja noch weiter. Da die Probe immer mit 5 ccm Zuckerlösung angestellt wird, lässt sich also noch $\frac{1}{2}$ mg Zucker nachweisen. Bei vergleichenden Versuchen mit Lösungen unter 0,1 % Zucker sieht man, dass die blaue Farbe der Kupferlösung um so mehr erhalten bleibt, je geringer der Gehalt an Zucker ist, je geringer also die Menge des ausgeschiedenen Kupferoxyduls sein muss. Das Kupferoxydul scheidet sich aus diesen verdünnten Lösungen aber nicht sofort ab, sondern bleibt in der Flüssigkeit als ein sehr feiner Nebel suspendirt, in dem auch das schärfste Auge nirgends ein Stäubchen erkennen kann. Obwohl dieser Nebel sicher ein Niederschlag ist, hat er doch das Eigenthümliche, dass er vollkommen einer opalisirenden Lösung gleicht, weil die ausgeschiedenen Kupferoxydultheilchen von unmessbarer Feinheit sind.

1) Worm-Müller, a. a. O. Dies Arch. Bd. 27 S. 119.

Je verdünnter die Zuckerlösung war, um so länger dauert es (12 Stunden und mehr), bis das Kupferoxydul sich am Boden als schön rothes Pulver abgesetzt hat. Bei einem Gehalt von 0,01 % Zucker und weniger macht sich die Worm-Müller'sche Reaction nur durch eine sehr schwache Trübung bemerkbar, welche man wahrnimmt, wenn man die Lösung vor einem dunklen Hintergrunde in durchfallendem hellen Licht betrachtet, welches sie durchdringt. Nach 10 bis 12 Stunden hat sich aber am Boden ein Häufchen rothen Kupferoxyduls abgesetzt. — Liegt der Zuckergehalt der zu untersuchenden Lösung unter 0,1 %, beobachtet man öfter im auffallenden Licht eine bald mehr, bald weniger ausgesprochene prachtvoll grüne Farbe, für welche ich folgende Erklärung gebe. Bei auffallendem Licht und dunklem Hintergrund kommt das Licht aus der Reactionsflüssigkeit nur von den undurchsichtigen reflectirenden Stäubchen des Kupferoxyduls. Als gelbrothe Substanz absorbiren die Oberflächen der Stäubchen alle brechbareren Strahlen des Spectrums vom Violett bis zum Grün. Die blaue Kupferlösung absorbirt aber alle weniger brechbaren Strahlen vom Roth bis zum Grün. Es wird also das grüne Licht am wenigsten durch Absorption geschwächt. Weil zur Hervorbringung der grünen Farbe die gleichzeitige Zusammenwirkung der beiden Licht absorbirenden Stoffe in Betracht kommt, ist es klar, dass mit Veränderung in dem Verhältniss der beiden Stoffe sich immer mehr die Farbe des Stoffs aufdrängen muss, der überwiegt. Ist also die Reductionswirkung so weit vorgeschritten, dass die Kupferlösung nur noch einen schwachen blauen Ton hat, wird begreiflich das Rothgelb des Kupferoxyduls nicht mehr ausreichend absorbirt, so dass dann diese Farbe sich deutlicher geltend macht. Diese grüne Reaction ist also wesentlich durch die chemische Eigenschaft des Sedimentes bedingt, d. h. durch die Lichtabsorption des Kupferoxyduls, und hat desshalb einen grossen diagnostischen Werth. Man beobachtet die schöne Erscheinung auch beim Harne oft genug.

Aber nicht selten mischt sich im Harne dem durch das Kupferoxydul bedingten Nebel ein solcher bei, welcher durch die Phosphate der alkalischen Erden bedingt ist, die obendrein durch Farbstoffe verunreinigt sein können. Es wird sich dann ein mehr oder weniger schmutziges Weiss der grünen Farbe beimischen und sie beeinträchtigen.

Die beschriebene grüne Reaction sieht man im durchfallenden Lichte nicht. Denn weil die Stäubchen des Kupferoxyduls undurch-

sichtig sind, kann das Licht nur durch die blaue Kupferlösung ihren Weg nehmen, also nur durch diese beeinflusst werden.

Dass die gegebene Erklärung richtig ist, geht daraus hervor, dass sich bei der Reaction von Worm-Müller die rothe Farbe um so mehr geltend macht, je stärker die Reduction ist, d. h. je weniger Kupferlösung im Verhältniss zum Zucker angewandt wurde.

Worm-Müller wusste schon, dass seine Reaction bei sehr geringem Zuckergehalte des Harnes am besten oder wohl gar allein bei einem bestimmten Gehalt der Reactionsflüssigkeiten an Kupfersulfat gelingt. Immer nimmt er 5 ccm Harn und 2,5 ccm alkalische Seignettesalzlösung, aber bald 1 ccm seiner Kupfersulfatlösung, bald 2 ccm, bald 3 ccm u. s. w.

Wir sind jetzt vorbereitet, um die Entstellung zu beweisen, die Olof Hammarsten meinen Arbeiten zu Theil werden lässt. Ich sagte, dass ich „gewöhnlich“ die Reaction auf Zucker mit 3 ccm der 2 $\frac{1}{2}$ %igen Kupfersulfatlösung ausführe. Durch lange Erfahrung habe ich nämlich gefunden, dass in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle das günstigste Verhältniss ist: auf 5 ccm Harn eine Mischung von 2,5 ccm der alkalischen Seignettesalzlösung + 3 ccm der 2,5 %igen Kupfersulfatlösung. Gibt nun die Reaction ein positives unzweideutiges Resultat, was fast immer, also „gewöhnlich“ der Fall ist, wenn der Harn Zucker enthält, so habe ich nicht nöthig, noch alle möglichen Mischungsverhältnisse durchzuprobiren, da es sich ja nur um eine qualitative Probe handelt, die ich stets durch den Polarisationsapparat vor und nach Vergärung des Harnes controllirt habe. Nun meint Olof Hammarsten, das Wort „gewöhnlich“ bedeute, dass ich bei negativem Ausfall der Probe auf weitere Prüfung mit veränderten Mischungsverhältnissen der Reagentien verzichtet hätte. Das Wort „gewöhnlich“ bedeutet doch, dass ich nicht immer mich mit dem einen Mischungsverhältniss begnügt habe. Da liegt doch der Schluss nahe, dass ich eine Ausnahme machte, wo es nothwendig wurde. Worm-Müller hat ja ebenfalls keineswegs alle möglichen Mischungsverhältnisse durchprobirt. Er hörte auf, sobald die Reaction in beweisender Deutlichkeit erzielt war. Folgende Worte Worm-Müller's¹⁾ beweisen dies:

„Erhält man keine Ausscheidung bei 1 bis 1,5 ccm CuSO₄-Lösung, so wird die Probe mit steigenden Quantitäten 2, 2,5, 3, 3,5 bis 4 ccm wiederholt, bis Ausscheidung von Kupferoxydul ein-

1) Worm-Müller, a. a. O. S. 113.

„tritt, oder bis es sich zeigt, dass die Flüssigkeit nicht mehr entfärbt wird, d. i. bis sie grün gefärbt verbleibt; das ist nämlich das Zeichen dafür, dass man einen Ueberschuss zugesetzt hat, und man braucht jetzt nicht weiter zu gehen.“

Das heisst doch, dass Worm-Müller so lange probirt, bis er die Reaction hat, wo er dann nicht weiter geht.

Weil ich bei Anwendung von 3 ccm Kupfersulfatlösung die Reaction „gewöhnlich“ deutlich bei Gegenwart von Zucker erhielt, brauchte ich nicht noch weiter zu probiren, was doch ganz sinnlos gewesen wäre.

Olof Hammarsten¹⁾ behauptet desshalb, es sei nicht ausser Acht zu lassen, „dass die Worm-Müller'sche Probe ‚gewöhnlich‘ von Pflüger in nicht vorschriftsmässiger Weise ausgeführt“ werde. Hammarsten unterscheidet demgemäss zwischen meiner und Worm-Müller's Methode. „Nach beiden Verfahren arbeitet man also immer mit 5 ccm Harn und 2,5 ccm alkalischer Seignette-salzlösung, und der Unterschied besteht nur darin, dass Worm-Müller eine Reihe von Proben mit verschiedenen Mengen Kupfersulfatlösung kocht, während Pflüger dagegen ‚gewöhnlich‘ nur 3 ccm Kupfersulfatlösung zu der Prüfung verwendet.“ Diese thörichte, in der Abhandlung noch öfter vorkommende Entstellung des Sinnes meiner Untersuchung liegt offenbar darin, dass er mein Wort „gewöhnlich“ fälschlich gleichbedeutend mit „immer“ setzt. Nein! Worm-Müller und Pflüger machen beide immer eine Reihe von Proben, bis sie die beweisende Reaction haben.

Ausser der hier beschriebenen nimmt Olof Hammarsten noch eine andere Fälschung meiner Ansichten vor, mit Hülfe deren er dann beweist, dass erhebliche Zuckermengen übersehen werden können, wenn man die Worm-Müller'sche Probe nach meiner Vorschrift ausführt. Mit beispielloser Dreistigkeit behauptet nämlich Olof Hammarsten, dass die bei kleinen Zuckermengen auftretende grüne Reaction von mir nicht als beweisend angesehen werde. In unserer Abhandlung²⁾, auf welche sich Olof Hammarsten's Behauptung bezieht, ist mit keiner Silbe von der grünen Reaction die Rede, weil dieselbe ja von Worm-Müller entdeckt und Jedermann bekannt war. Wie kommt Olof Hammarsten nun zu der Verdächtigung, dass ich diese Reaction nicht als beweisend anerkenne?

1) Olof Hammarsten, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 50 S. 38.

2) Dies Archiv Bd. 105 S. 121.

O. Hammarsten beruft sich dabei auf meine Worte¹⁾: „Nach unserer Auffassung besteht das Wesentliche der Worm-Müller'schen Probe nicht darin, dass Reduction eintritt oder nicht, sondern darin, dass nicht die braunrothe, sondern ziegelrothe Farbe des Kupferoxyduls sich geltend macht, welches sich ausgeschieden hat. Unter Ausscheidung ist nicht gemeint, dass ein Sediment entsteht, sondern dass man bei auffallendem Licht den unendlich feinen Staub des Kupferoxyduls, besonders vor einem dunklen Hintergrund, wie einen Nebel, die Flüssigkeit erfüllend, wahrnimmt.“

Das Wesentliche der Reaction von Worm-Müller, ich wiederhole es nochmals, ist, dass sich Kupferoxydul ausscheidet, und dass sich die ziegelrothe Farbe des Kupferoxyduls geltend macht. Geltend macht sich diese Farbe auch, wenn der zuweilen bei geringem Zuckergehalte des Harnes auftretende Nebel im auffallenden Lichte einen grünen Schein zeigt. Schon Worm-Müller hat richtig erkannt, dass neben dem Kupferoxydul noch Kupfersulfat in Lösung sein muss, wenn die grüne Farbe beobachtet werden soll. Ändert man also die Versuchsbedingungen so, dass die Kupferlösung vollkommen reducirt wird, muss der grüne Schein verschwinden und die ziegelrothe Farbe an seine Stelle treten. Worm-Müller und Andere haben ebenso wie ich die grüne Reaction für beweisend angesehen. Ich habe im vergangenen Jahre bei Untersuchung von Leberextracten die grüne Reaction sehr oft vor mir gehabt und sie als positiven Beweis für Zucker meinen Assistenten gezeigt.

Es ist also eine dreiste Entstellung der Wahrheit und eine unberechtigte Schlussfolgerung aus meinen Worten, wenn Olof Hammarsten²⁾ sagt: „Nach Pflüger ist also nur die ziegelrothe Farbe des Oxyduls beweisend für die Anwesenheit von Zucker. Nach Worm-Müller und Huppert-Neubauer ist schon eine schmutzig-gelbgrüne Trübung beweisend.“

Olof Hammarsten nimmt keinen Anstand, die Probe von Worm-Müller durch folgende ganz ungerechte Schmähungen herabzusetzen, wenn er behauptet: „Es gibt überhaupt kein charakteristisches Aussehen dieser Probe.“

Ich habe auch sehr viele diabetische und normale Harnen untersucht. Bei höherem Zuckergehalt ist die prächtige ziegelrothe Reaction

1) Dies Archiv Bd. 105 S. 134.

2) Olof Hammarsten, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 50 S. 41.

höchst charakteristisch und ganz unzweideutig. Erst bei kleinerem Zuckergehalte von 0,1 und weniger stellen sich zuweilen Schwierigkeiten ein, weil die Beimengung von Phosphaten und Farbstoffen zu dem Kupferoxydul die Ausscheidungen missfarbig erscheinen lässt. Durch Abänderung der Reaction nach Worm-Müller habe ich mich aber fast immer orientiren können. Worm-Müller¹⁾ hat Versuchsreihen mit ausgegohrenen Harnen angestellt, denen er Traubenzucker zusetzte, so dass Mischungen von 0,1, 0,05, 0,025, 0,0167 und 0,0125 p. Ct. erhalten wurden. Der Zucker konnte mit dieser Methode ohne Schwierigkeit in den ersten drei Mischungen nachgewiesen werden. Die 0,0125 %ige und die 0,0167 %ige dagegen gaben eine zweifelhafte Reaction; bei Vergleichung mit dem ursprünglichen, ausgegohrenen Harne, welcher auf dieselbe Weise behandelt wurde, war doch nicht zu verkennen, dass sich fein suspendirtes Kupferoxydulhydrat in der Flüssigkeit vorfand. Die Methode hat sich überhaupt bei Proben mit zuckerhaltigen Harnmischungen als so empfindlich bewährt, dass man mit ihrer Hülfe ca. 0,025 p. Ct. Traubenzucker und 0,05 bis 0,075 p. Ct. Milchsucker nachzuweisen vermag.

Ein so peinlich zuverlässiger Forscher würde das nicht sagen, wenn sich sein Urtheil auf zweideutige Reactionen stützte. Es ist desshalb bemerkenswerth, dass die durch Harnbestandtheile bedingten Störungen der Reaction nicht verhindern, fast denselben Grad der Empfindlichkeit zu erzielen, wie ich ihn mit Traubenzucker in wässriger Lösung erhalten habe.

Dass Olof Hammarsten trotzdem ein so ungünstiges Urtheil über seinen Concurrenten fällt, hat wohl auch besonders darin seinen Grund, dass er seine Untersuchungen nicht mit diabetischen, sondern mit normalen Harnen von abnorm hoher Concentration²⁾ ausführte. Solche ausgesuchten Ausnahmefälle gesunder Harne sind doch allein nicht ganz maassgebend, um die bei diabetischen Harnen sich vollziehende Reaction schlecht zu machen.

Ich habe fast immer diabetische Harne oder glykosurische benutzt, um die Reactionen auf Zucker im Harne zu prüfen. Ich vermied es, hierzu normale Harne zu wählen, denen ich Zucker zusetzte. Wenn die Studirenden in unserem Laboratorium die qualitativen und quantitativen Zuckerreactionen einüben, sende ich stets

1) Worm-Müller, dies Arch. Bd. 27 S. 121.

2) Olof Hammarsten, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 50 S. 45 ff.

einen Diener nach Bad Neuenahr, um ächten diabetischen Harn zu holen, da dort viele Zuckerkrankte in Behandlung sind.

In der früheren Arbeit hoben wir als besonders beweisend für die Vorzüglichkeit der Worm-Müller'schen Probe hervor, dass ihre Ergebnisse regelmässig durch den Polarisationsapparat bestätigt worden sind. Aus meinen Arbeiten geht hervor, dass ich mich bei der Zuckeranalyse nicht mit der Reduction begnügt habe, sondern stets vor und nach Gährung polarisirte.

Olof Hammarsten behauptet aber: „die Kontrolle mit dem Polarisationsapparat allein ist bei Gegenwart von kleinen Zuckermengen „vollkommen illusorisch.“ Es gibt ja natürlich, wie wir sahen, eine untere Grenze für den Nachweis des Zuckers, die etwa unter 0,025 % liegt. Für diejenigen Gehalte unter 0,1 %, welche überhaupt nachweisbar sind, ist aber die Controlle mit dem Polarisationsapparat nicht illusorisch. „Es ist nämlich“, sagt O. Hammarsten, „allgemein bekannt, dass ein Harn, welcher 0,1 bis 0,2 % Zucker enthält, recht wohl die Rotation Null oder sogar Linksdrehung zeigen kann.“ Gewiss! dieser Harn gibt aber die Probe von Worm-Müller und zeigt nach der Gährung nicht mehr die Polarisation Null. Sollte nach der Gährung die Polarisation Null noch vorhanden sein, so muss für den vergohrenen rechts drehenden Zucker eine optisch äquivalente Menge von Glykogen aus der Hefe ausgetreten sein, während der Harn seine reducirende Fähigkeit verloren hat. Die Digestion der Hefe mit Wasser bestätigt dann, wie ich in der früheren Arbeit zeigte, dass diese Complication vorliegt. Sie kommt aber nur selten vor. Da bei solchem Versuche die Worm-Müller'sche Probe wohl vor, aber nicht mehr nach der Gährung gelingt, ist der Beweis für den Zucker gesichert.

Ferner behauptet Olof Hammarsten, dass man ebensowenig den negativen Ausfall der Probe von Worm-Müller mit dem Polarisationsapparat controlliren könne. Er will sich davon überzeugt haben, dass man starke links drehende Harne mit 0,1 bis 0,2 % Zucker versetzen kann, ohne die Linksdrehung aufzuheben. Es ist also selbst klar, folgert er weiter, „dass man bei Gegenwart „von so kleinen Zuckermengen den negativen Ausfall der Worm-Müller'schen Probe als einen Beweis für die Abwesenheit von „Zucker nicht mit dem Halbschattenapparat controlliren kann“. Darauf erwidere ich: Negativ ist die Probe von Worm-Müller bei einem Zuckergehalt von unter ca. 0,025 %; dann versagt wohl auch der

Polarisationsapparat. Es handelt sich aber dann um Zuckermengen, die keine praktische Bedeutung mehr haben.

Ich könnte noch mehr gegen dieses nichtige, den Polarimeter verdächtigende Gerede von O. Hammarsten vorbringen. Es mag aber vorerst genügen.

Es ist nothwendig, endlich noch einige Betrachtungen der auch von Olof Hammarsten berührten sogenannten physiologischen Glykosurie zu widmen. Worm-Müller bringt Beobachtungen, auf die ich grosses Gewicht legen muss. Bei 60 „normalen“ Harnen erhielt er 15 Mal seine Probe; nachdem diese 15 Harne vergohren worden waren, fiel bei elf Harnen die Probe negativ aus, während sie bei vier Harnen noch erhalten wurde. Worm-Müller schliesst, dass die elf Harne, die er für normale hielt, Zucker enthalten hätten.

Da ich nun bei Untersuchung von Hunderten normaler Harne des Menschen niemals die Worm-Müller'sche Probe gesehen zu haben behauptete, wird daraus der Schluss gezogen werden können, dass die Probe unsicher ist. Ich denke aber daran, dass Race und Lebensbedingungen, Klima und Ernährung einen Einfluss ausüben, so dass die physiologische Glykosurie in verschiedenen Ländern erhebliche Abweichungen zeigen könnte, wie sie z. B. in Bonn nicht vorzukommen scheint. Herr Dr. Grube macht mich soeben, betreffend die Angaben der Skandinavier Worm-Müller und Olof Hammarsten darauf aufmerksam, dass wegen der Kälte dort grosse Quantitäten stark gezuckerten heissen Punsches getrunken werden, die vielleicht die Beobachtungen Worm-Müller's erklären.

Ich habe übrigens auch bei normalen Hunden niemals die Worm-Müller'sche Probe erhalten.

Es wäre nun von grosser Wichtigkeit, festzustellen, ob sich in solchen normalen Harnen, welche die Probe von Worm-Müller nicht geben, wirklich Zucker nachweisen lässt, d. h. ob es eine physiologische Glykosurie gibt. — Ich werde diese Frage zum Gegenstande einer eingehenden Untersuchung machen. —

Es ist zu bemerken, dass bei den hier behandelten Untersuchungen normale Ernährungsverhältnisse und die Ausschliessung von Medicamenten vorausgesetzt sind.

1) Olof Hammarsten, a. a. O. S. 56.