Zur Bestimmung des Harnzuckers.

(Bestimmung kleiner und kleinster Zuckerwerte mittels
Zeitreaktion.)

Von

Dr. rer. nat. **F. Clausnizer** (Stuttgart).

(Hierzu Tafel I.)

Das Vorkommen des meist schleichend beginnenden Diabetes scheint bei uns immer häufiger beobachtet zu werden. Nach v. Noorden¹⁾ befällt diese Krankheit unter den Menschen höheren Alters die Wohlhabenden mehr als die Ärmern. Allenthalben finden sich ernste Hinweise auf die Wichtigkeit der Harnzuckerbestimmungen und den Nutzen einer rechtzeitigen ärztlichen Beobachtung und Behandlung derjenigen, deren Harn sporadisch oder dauernd Zucker in einer über die Grenze des Normalen hinausgehenden Menge (vgl. S. 160f.) enthält. Die diesbezüglichen Äusserungen einiger Forscher mögen hier wörtlich Platz finden:

Ebstein und Schwalbe²⁾: „Je mehr man sich daran gewöhnt, die Urine seiner Patienten auf Zucker zu untersuchen, um so weniger Fälle von Zuckerkrankheit wird man übersehen.“ „Je früher die Zuckerkrankheit richtig erkannt wird, umso besser werden auch bei den betreffenden Kranken, wofern sie sich einer geeigneten Behandlung unterziehen, in der Regel die therapeutischen Ergebnisse sein.“

Sahli³⁾ betont, dass „eine kunstgerechte Diabetesbehandlung tägliche oder wenigstens sehr häufige quantitative Zuckerbestimmungen erfordert, um jede einzelne Modifikation der Diät in ihrer Wirkung sofort verfolgen zu können und darnach den Behandlungsplan aufzubauen“.

v. Noorden⁴⁾ sagt gelegentlich der Besprechung der „leichten“ Glykosurie: „Wird frühzeitig eingeschritten, so darf man fast regel-

1) C. v. Noorden, Zuckerkrankheit und ihre Behandlung S. 53. Berlin 1910.

2) W. Ebstein und J. Schwalbe, Handb. d. prakt. Med. Bd. 4 S. 497 f. Stuttgart 1906.

3) H. Sahli, Lehrb. d. klin. Untersuchungsmethoden S. 694. Leipzig und Wien 1909.

4) C. v. Noorden, Zuckerkrankheit und ihre Behandlung S. 228 und 230. Berlin 1910.

mässig auf gute, sogar glänzende therapeutische Erfolge rechnen.“ „Verhältnismässig gross ist die Zahl der Kranken, die trotz beschränkter Toleranz für Kohlehydrate durch sorgfältige Regelung der Lebensweise stets zuckerfrei und trotz langer Dauer der Krankheit frei von Komplikationen bleiben. Im ungünstigsten Falle erreicht man immer noch ein Hinausrücken schlimmer Wandlungen.“

Und zum Kapitel der „schweren“ Glykosurie führt v. Noorden¹⁾ aus: „Fast ausnahmslos geht der schweren Form der Glykosurie ein Stadium voraus, in dem sich die Glykosurie noch sehr leicht durch Beschränkung oder Entziehung der Kohlehydrate zurückdrängen liess.“

Endlich sagt v. Noorden²⁾ zur hygienisch-diätetischen Behandlung von Diabetikern: „Die klinische, auf breitester Grundlage ruhende Erfahrung geht dahin, dass Zuckerkrankte, die mehr Kohlehydrate geniessen, als sie vertragen, Komplikationen der verschiedensten Art, insbesondere degenerativen Prozessen und vorzeitigen Altersveränderungen, erheblich mehr ausgesetzt sind als Zuckerkrankte, die sich der gebotenen Beschränkung der Kohlehydrate unterwerfen.“ „Ein Teil dieser Störungen und zwar gerade die schlimmsten (Linsentrübung, Erkrankungen des Augenhintergrundes, hartnäckige Neuralgien, Gangrän), finden sich fast ausschliesslich bei Kranken, die jahrelang kleine Mengen von Zucker ausscheiden, aber der kleinen Zuckerausscheidung nicht achteten oder nur unvollständige Abwehr ergriffen.“ „Die Erfahrung lehrt täglich aufs neue, welche ausgezeichneten Wirkungen aus der womöglich bis zur völligen Entzuckerung getriebenen Kohlehydratbeschränkung für den Gesamtorganismus hervorgehen.“

Von den verschiedenen Zuckerarten³⁾, die im Harn vorkommen können, spielt weitaus die grösste Rolle der **Traubenzucker** (Dextrose, Glykose).

Dafür, dass auch im **normalen Harn**, d. h. im Harn gesunder Menschen, sehr oft — allerdings meist in geringer Menge — Zucker enthalten ist, ist der Beweis im Lauf der letzten Jahrzehnte unzweifelhaft erbracht worden.

Schon Worm Müller⁴⁾ sagt auf Grund sehr sorgfältiger Beob-

1) C. v. Noorden, Zuckerkrankheit und ihre Behandlung S. 231 f. Berlin 1910.

2) C. v. Noorden, Zuckerkrankheit und ihre Behandlung S. 273 und 275. Berlin 1910.

3) Zur Beantwortung der Frage: „Welche Zuckerarten werden im Harn nach Genuss der verschiedenen Kohlehydrate ausgeschieden?“ hat ausser Cl. Bernard besonders Worm Müller (Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. 34 S. 582 ff. 1884) durch eingehende Versuche ausserordentlich wertvolle Beiträge geliefert.

4) Worm Müller, Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. 34 S. 577. 1884. — Worm Müller, Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. 27 S. 124. 1882.

achtungen, eine Zuckerausscheidung im Harn sei innerhalb gewisser Grenzen als physiologisch zu betrachten, und es sei „jedenfalls wahrscheinlich, dass der normale Harn Traubenzucker enthalte, wenn auch in wechselnden Mengen (von 0,05 % oder mehr bis 0,01 % oder weniger)“. Nach v. Noorden¹⁾ sind bei gewöhnlicher Ernährung im Harn Spuren von Traubenzucker (0,01—0,02 %). Breul [vgl. Naunyn²⁾] gibt als die im normalen Harn täglich ausgeschiedene Zuckermenge 0,4—1,4 g (zwischen 0,04 und 0,02 %) an. Baisch³⁾ fand eine tägliche Zuckerausscheidung im normalen Harn in einer Menge von 0,08—0,18 g. Nach Lohustein [vgl. Spaeth⁴⁾] ist als der mittlere Traubenzuckergehalt des normalen Harns ein solcher von 0,02 % anzusprechen. Schöndorff⁵⁾ hat eine scharfe „Methode zur quantitativen Bestimmung kleinster Zuckermengen im Harn“ beschrieben und nach dieser Methode normale Harne untersucht. Ein Hauptergebnis seiner Versuche war, dass „jeder normale Menschenharn, auch wenn die zuverlässigste Zuckerprobe, die Worm Müller'sche Probe, nichts anzeigt, quantitativ messbare Mengen von Zucker enthält, und zwar von 0,0105—0,0274 %, und dass infolge übermässigen Genusses von Kohlehydraten diese Zuckermenge bis zu 0,1 % steigen kann“.

Bezüglich des Zuckergehaltes im

Harn von Diabetischen bemerkt v. Noorden⁶⁾: „Es gibt Diabetiker, die täglich nur wenige Gramm oder gar keinen Zucker entleeren, und andere Diabetiker, bei denen die Tagesmenge fast 1 kg erreicht. Solche hohe Werte sind äusserst selten; 300—500 g werden aber oft gefunden.“

Zur

quantitativen Zuckerbestimmung sind eine ganze Anzahl Apparate und Methoden empfohlen worden: Polarimeter; densimetrische

1) C. v. Noorden, Zuckerkrankheit und ihre Behandlung S. 20. Berlin 1910.

2) B. Naunyn, Diab. mel. S. 31. Wien 1906.

3) K. Baisch, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 19 S. 357. 1894.

4) E. Spaeth, Chem. und mikroskop. Untersuchung des Harns S. 248 Leipzig 1908.

5) B. Schöndorff, Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. 121 S. 589 ff. 1908.

6) C. v. Noorden, Zuckerkrankheit und ihre Behandlung S. 77 f. Berlin 1910.

Gärungsprobe nach Roberts [vgl. Sahli¹⁾] oder nach Lohnstein [vgl. Spaeth²⁾]; Gärungssaccharometer von Lohnstein und von Wagner [vgl. Spaeth³⁾], von Wiedmann⁴⁾ und von anderen; Titrationsmethoden von Fehling und von Knapp [vgl. Worm Müller und Hagen⁵⁾], von Pavy bzw. Sahli⁶⁾, von Benedict [vgl. Myers⁷⁾], von Soxhlet und von anderen [vgl. Spaeth⁸⁾, Sahli⁹⁾]; kolorimetrische Bestimmung von Autenrieth und Tesdorpf¹⁰⁾] bzw. von Autenrieth und Müller¹¹⁾; usw.

Ausgesprochene Zuckerharne — damit soll hier gesagt sein: Harne mit einem Zuckergehalt von etwa 0,2—0,5 % an aufwärts — geben mit obigen Apparaten bzw. Methoden im allgemeinen die Zuckerwerte mit grösserem oder geringerem Material- und Zeitaufwand und mit mehr oder weniger Sicherheit, meist jedoch mit praktisch hinreichender Genauigkeit an.

Hat man aber

Harne mit geringem Zuckergehalt zu untersuchen, so stösst man dabei häufig auf Schwierigkeiten, weil die über den Zucker dann mehr oder weniger dominierenden, sich durch optische Drehung oder durch eine den Versuchsansteller irreführende Gasentwicklung oder durch Reduktionswirkung oder durch Lösungsvermögen (vgl.

1) H. Sahli, Lehrb. d. klin. Untersuchungsmethoden S. 705 f. Leipzig und Wien 1909.

2) E. Spaeth, Chem. und mikroskop. Untersuchung des Harns S. 301 f. Leipzig 1908.

3) E. Spaeth, Chem. und mikroskop. Untersuchung des Harns S. 294 ff. Leipzig 1908.

4) O. Wiedmann, Münch. med. Wochenschr. Heft 16 S. 858 f. 1911.

5) Worm Müller und J. Hagen, Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. 16 S. 567 ff. 1878.

6) H. Sahli, Lehrb. d. klin. Untersuchungsmethoden S. 699 f. Leipzig und Wien 1909.

7) V. C. Myers, Münch. med. Wochenschr. Heft 27 S. 1494 ff. 1912.

8) E. Spaeth, Chem. und mikroskop. Untersuchung des Harns S. 306 ff. Leipzig 1908.

9) H. Sahli, Lehrb. d. klin. Untersuchungsmethoden S. 695 f. Leipzig und Wien 1909.

10) W. Autenrieth und Th. Tesdorpf, Münch. med. Wochenschr. Heft 34 S. 1780 ff. 1910.

11) W. Autenrieth und G. Müller, Münch. med. Wochenschr. Heft 17 S. 899 ff. 1911.

Anm. 2 S. 165) empfindlich bemerkbar machenden Nichtzucker-substanzen¹⁾ des Harns das Zuckerresultat ungünstig beeinflussen, oder weil, wie z. B. bei der densimetrischen Gärungsprobe, dann der Zuckergehalt zu klein ist im Verhältnis zur Feinheit der Apparate und zur Genauigkeit der Ablesung.

Schöndorff's Methode der quantitativen Bestimmung kleinster Zuckermengen im Harn (vgl. S. 161) gestattet noch die Bestimmung von 0,01 % Harnzucker, ist aber nichts weniger als einfach, und es fehlt meines Erachtens bisher an einem **handlichen, möglichst einfache Mittel erfordernden Verfahren**, nach welchem sich in kurzer Zeit und mit genügender

1) Das Polarimeter zeigt meist etwas zu wenig Zucker an, weil die linksdrehenden Harnsubstanzen in der Regel die rechtsdrehenden — von etwa vorhandener Dextrose abgesehen — überwiegen. In hochgestellten Harnen ist diese Linksdrehung im allgemeinen stärker als in Harnen von niederm spezifischem Gewicht. Ich habe in normalen Harnen, die nach dem Worm Müller'schen Kupferreduktionsverfahren (vgl. S. 165/166) höchstens sehr geringe Mengen Traubenzucker angezeigt haben, im 200-mm-Rohr eines vorzüglichen, auf die Richtigkeit des Nullpunktes und der Traubenzuckerskala kontrollierten Halbschattensaccharimeters (vgl. Anm. 1 S. 185) niemals Rechtsdrehung und äusserst selten genau 0 %, dagegen meist eine schwache Linksdrehung von ca. — 0,025 bis — 0,15 % (nach der Traubenzuckerskala) beobachtet. Wenn ich solche Harne der Vergärung mit Hefe ausgesetzt habe, ist die Linksdrehung häufig noch um eine Kleinigkeit stärker geworden. Wegen der erwähnten Linksdrehung wird in der Untersuchungspraxis bei den polarimetrischen Harnzuckerbestimmungen zu den gefundenen Traubenzuckerprozenten ein kleiner Zuschlag (ca. 0,1 %) gemacht.

Bei der Bestimmung des Harnzuckers mittels eines, auf dem Prinzip der manometrischen Messung der entwickelten Kohlensäure beruhenden, Gärungs-saccharometers kann die „Selbstgärung“ der Hefe (mit dem Glykogengehalt derselben zusammenhängend) oder eine bakterielle Zersetzung des Harnstoffes (infolge einer Verunreinigung der Hefe durch Spaltpilze) die Genauigkeit der Bestimmung beeinträchtigen. Zudem geben die Gärungsverfahren das Resultat erst nach Verfluss von 6—10 Stunden.

Die Titrimethoden liefern (bei der hiefür erforderlichen Kochtemperatur) wegen des Gehalts der Harne an reduzierenden Nichtzucker-substanzen — bald mehr, bald weniger — zu hohe Zahlen.

Unter diesem Übelstand leidet in ähnlicher Weise die kolorimetrische Harnzuckerbestimmung.

Der Einfluss der Nichtzuckersubstanzen macht sich bei allen diesen Bestimmungsmethoden im allgemeinen um so störender geltend, je geringer der Zuckergehalt des zu untersuchenden Harns ist.

Schärfe kleine und kleinste Zuckermengen im Harn bestimmen lassen.

Ein solches Verfahren könnte wertvoll werden für den Arzt, für Sanatorien und Kliniken, für Untersuchungsstationen und für die wissenschaftliche Forschung. Bei der Beobachtung und einer im Verband damit einsetzenden diätetischen Behandlung von Diabetikern — besonders von solchen auf strengere Kost gesetzten älteren, welche die mehr gutartige Form dieser Stoffwechselstörung haben — kann es vorkommen, dass man den Harnzucker, bei seiner Geringfügigkeit und infolge des Vorherrschens optisch drehender oder reduzierender Nichtzuckersubstanzen, zum Beispiel mit dem Polarimeter oder mittels direkter Titration nicht mehr zu bestimmen vermag, dass man jedoch bei einer Untersuchung auf anderem Wege auf einen sehr geringen Prozentsatz Harnzucker stösst, der sich zuweilen — trotz weitgehender Beschränkung der Kohlehydrate bei der Nahrungsaufnahme — hartnäckig in einer Höhe von 0,02 bis 0,05 % hält, zuweilen auch unter 0,02 % sinkt, um unter Umständen — etwa nach Amylaceenzulage — plötzlich wieder mehr oder weniger zu steigen. Es ist aber vielleicht besonders wichtig, in diesen Stadien etwaige Schwankungen des Zuckergehaltes jeweils im Gesamttagesharn oder auch — zum Beispiel nach Mahlzeiten von bekannter qualitativer und quantitativer Zusammensetzung oder nach vollbrachter Muskulararbeit — in den einzelnen Harnportionen mit möglichst geringem Zeitaufwand und mit möglichst grosser Genauigkeit quantitativ verfolgen zu können.

Eine Methode, die verhältnismässig leicht anzuwenden wäre und rasch zum Resultat führen würde, und die namentlich bei zuckerärmeren Harnen eine gewisse Schärfe verbürgen könnte, würde wohl auch die erwünschte weitere Bearbeitung der Frage einer von Minkowski behaupteten, von Pflüger, Schöndorff und Wenzel¹⁾ bestrittenen transitorischen Glykosurie nach Narkosen oder chirurgischen Eingriffen und des Grenzgebietes zwischen pathologischer und physiologischer Glykosurie überhaupt [vgl. v. Noorden²⁾] und dann

1) E. Pflüger, B. Schöndorff und F. Wenzel, Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. 105 S. 121 ff. 1904.

2) C. v. Noorden, Zuckerkrankheit und ihre Behandlung S. 226 ff. Berlin 1910.

vielleicht auch die Aufstellung von sichereren Normen für Lebensversicherungs- und dgl. Gutachten zu fördern geeignet sein. Ein solches Verfahren könnte Anlass geben, dass ausgedehntere Untersuchungen über den Zuckergehalt normaler Harnen angestellt und weitere Versuchsdaten zum Kapitel über die Grenzen der Assimilation der verschiedenen Kohlehydrate bei Gesunden und Kranken geliefert werden.

Auf der Suche nach einem geeigneten Verfahren habe ich mich mit der Almén-Nylander'schen und mit der Worm Müller'schen Zuckerprobe (vgl. S. 166 ff.) eingehender beschäftigt.

Worm Müller¹⁾ hat sehr gründliche Untersuchungen über die Vorgänge bei der Reaktion zwischen Harnbestandteilen und Kupferoxydverbindungen in alkalischer Lösung mit und ohne Zusatz von Seignettesalz bei verschiedenen Temperaturen angestellt und gefunden, dass die den Zuckernachweis mittels Kupferlösung störende Wirkung gewisser Harnsubstanzen²⁾

1) Worm Müller, Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. 27 S. 22 ff., 59 ff., 86 ff., 107 ff., 127 ff. 1882.

2) Störender Einfluss gewisser Harnsubstanzen bei den Zuckerproben mittels Kupferlösungen. Worm Müller hat die Verhältnisse, unter denen Harnsäure und Kreatinin reduzierend auf Kupferoxyd bzw. lösend auf Kupferoxydul wirken, studiert und dann die Frage, wie diesen Wirkungen begegnet werden kann, experimentell bearbeitet. Das Ergebnis (Worm Müller, Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. 27 S. 58, 59, 62, 69 ff., 81 ff., 135 f. 1882) war folgendes:

a) Die reduzierende und die kupferoxydullösende Wirkung der Harnsäure wird vermieden und stört somit den Nachweis auch sehr kleiner Mengen Zucker im Harn nicht, wenn man eine genügende Menge Kupfersulfat in Mischung mit einem bestimmten Quantum alkalischer Seignettesalzlösung als Reagens verwendet und die Reaktionstemperatur unter Kochhitze (bei ca. 60 bis 80° C.) hält;

b) unter denselben Verhältnissen ist die reduzierende Wirkung des Kreatinins eine verhältnismässig geringe; eine Ausscheidung von Kupferoxydul wird jedoch durch das Kreatinin nicht bewirkt, weil letzteres die durch sein Reduktionsvermögen gebildeten kleinen Mengen Kupferoxydul gelöst hält und unter Umständen sogar noch etwas mehr Kupferoxydul, das sich durch die Oxydation etwa vorhandenen Zuckers bildet, in Lösung zu halten vermag; diesem Lösungsvermögen des Kreatinins ist es hauptsächlich zuzuschreiben, dass in sehr zuckerarmen Harnen, wenngleich das Reaktionsgemisch etwas Kupferoxyd im Überschuss enthält, oft eine Ausscheidung von Kupferoxydul nicht beobachtet wird. Ein Kreatiningehalt des Harns von 0,09% macht den Nachweis von ca. 0,02% Traubenzucker nach Worm Müller's Methode fast unmöglich,

(der Harnsäure und insbesondere des Kreatinins, vielleicht auch der Harnfarbstoffe) auf sehr zuckerarme Harne beschränkt wird, wenn man nach der von ihm gegebenen Vorschrift¹⁾ verfährt, wie folgt:

Man setzt 1—3 ccm 2,5 %ige Kupfersulfatlösung zu 2,5 ccm alkalischer Seignettesalzlösung (10 g Seignettesalz und 4 g Natriumhydroxyd mit Wasser auf 100 ccm Lösung gebracht²⁾). Das dieses Gemisch enthaltende Reagenzglas wird gleichzeitig mit einem zweiten, in das man 5 ccm von dem zu prüfenden Harn gegeben hat, erhitzt, bis der Inhalt beider Gläser kocht. Dann entfernt man letztere gleichzeitig von der Flamme, wartet 20—25 Sekunden und giesst nunmehr die Kupferlösung zum Harn³⁾. Hierauf beobachtet man das Glas mit dem Gemisch, ohne es zu schütteln. Entsteht sofort oder auch erst nach einiger Zeit in der ihre blaue Farbe mehr oder weniger ändernden Flüssigkeit ein Niederschlag von Kupferoxydul (bei stärkerem Zuckergehalt des Harns) oder von Kupferoxydulhydrat (bei geringerem Zuckergehalt), so ist damit im allgemeinen der Zuckernachweis geliefert. Die erste Probe wird in der Regel mit 1 bzw. 1,5 ccm Kupfersulfatlösung gemacht. Bei negativem Ausfall derselben sollen sukzessive weitere Proben mit gesteigertem Kupfersulfatzusatz²⁾ angestellt werden, bis eine Zuckerreaktion erkennbar wird, oder bis, falls Zucker in nachweisbarer Menge nicht vorhanden ist und somit eine Ausscheidung nicht stattfindet, die Flüssigkeit nicht mehr entfärbt wird, d. h. blau- bzw. grüngefärbt verbleibt.

dagegen stört ein Kreatiningehalt von 0,07 % den positiven Ausfall der Probe bei 0,02 % Traubenzucker nicht mehr wesentlich, und bei nur 0,05 % Kreatinin gibt noch ein Harn mit 0,015 % Traubenzucker die Worm Müller'sche Reaktion.

Die durch diese Versuchsergebnisse veranlasste Maassnahme, bei den Kupferreaktionen auf Harnzucker wenigstens die konzentrierteren Harne zuvor mit Wasser zu verdünnen (vgl. Schöndorff [Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. 121 S. 575. 1908], Pflüger [Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. 124 S. 5. 1908], Sahli [Lehrb. d. klin. Untersuchungsmethoden S. 659 und 662. Leipzig und Wien 1909]), hat, wie man sieht, hauptsächlich in Rücksicht auf den Kreatininhalt eine gewisse Berechtigung (vgl. übrigens auch Worm Müller und Hagen [Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. 16 S. 577 ff. 1878]). Es sei hier noch auf die von Pflüger, Schöndorff und Wenzel (Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. 105 S. 135 ff. 1904) gemachte interessante Beobachtung bei der Untersuchung des stark zuckerhaltigen Harns eines pankreaslosen Hundes auf Zucker — vor und nach Verdünnung des Harns mit Wasser — verwiesen.

1) Worm Müller, Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. 27 S. 112 ff. 1882.

2) Mit dem Zusatz von Kupfersulfatlösung muss man in selteneren Fällen auch höher, bis auf 4 ccm, höchstens aber 4,5 ccm, gehen; von der Seignettesalzlösung verwendet man immer nur 2,5 ccm.

3) Die Temperatur im Flüssigkeitsgemisch ist anfänglich 80 bis 85° C. und sinkt im Verlauf von 2 Minuten auf ca. 70° C.

Dass bei der Worm Müller'schen Harnzuckerprobe nicht nur die Farbe des Flüssigkeitsgemisches und des Niederschlags, sondern auch die **Geschwindigkeit des Auftretens der Reaktionserscheinung** vom stärkeren oder geringeren Zucker-gehalt des Untersuchungsharns abhängig ist, wurde schon von Worm Müller¹⁾ beobachtet.

Ähnliches lässt sich auch von der Trommer'schen Zuckerprobe [vgl. Lassar-Cohn²⁾] und, wie mir eigene Versuche gezeigt haben, von der

Nylander'schen Probe sagen, bei der ein Quantum von 5 cem normalen, medikamentfreien, durch Zusatz einer entsprechenden Menge Traubenzuckers auf einen bestimmten (Mehr-)Zucker-gehalt gebrachten Harns, mit 10 Tropfen Nylander-Lösung erhitzt, in der Regel

bei einem (Mehr-)Zucker- gehalt von %:	in (ca.) Sekunden:	
0,8	15—20	} vom Beginn des Kochens ab gerechnet, sich undurchscheinend dunkel färbt,
0,5	20—25	
0,4	30—35	
0,3	40—45	
0,2	150—210	
0,1	nach einer Kochdauer von 5 Minuten wohl noch durch- scheinend ist, aber schwarzen Niederschlag absetzt,	
0,05	nach einer Kochdauer von 5 Minuten noch durchscheinend ist, aber hellgrauen bis grauen Niederschlag absetzt.	

Da indes die Nylander'sche Zuckerprobe an Schärfe und Zuverlässigkeit³⁾ der Worm Müller'schen bedeutend nachsteht,

1) Worm Müller, Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. 27 S. 113. 1882.

2) Lassar-Cohn, Praxis der Harnanalyse Anm. S. 30 f. Hamburg und Leipzig 1909.

3) Schärfe und Zuverlässigkeit der Nylander'schen Zuckerprobe. Nylander (Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 8 S. 175 ff. 1883/84) räumt selbst ein, dass die Worm Müller'sche Probe die seinige an Empfindlichkeit übertreffe. Die Nylander'sche Probe täuscht — auch in gut vergorenen und absolut zuckerfreien Harnen — nach Einnahme von verschiedenen Arzneimitteln oder, wenn die Harnen reich sind an Uroerythrin (vgl. Spaeth [Chem. und mikroskop. Untersuchung des Harns S. 272. Leipzig 1908]) bzw. auch an gewissen andern Harnsubstanzen (vgl. Buchner [Ärztl. Rundschau 1899 Nr. 42—44], Worm Müller [Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. 27 S. 122. 1882], Sahli [Lehrb. d. klin. Untersuchungsmethoden S. 664 f. Leipzig und Wien 1909]), Traubenzucker vor. In Chloroform- und Quecksilberharn erleidet die Zuckerreaktion mit Wismutlösung eine Hemmung (Sahli [Lehrb. d. klin. Untersuchungsmethoden S. 663. Leipzig und Wien 1909], Bechhold [Zeitschr. f. physiol.

habe ich meinen folgenden Versuchen ausschliesslich die von Pflüger¹⁾, von Ebstein und Schwalbe²⁾ und von anderen [vgl. Hoppe-Seyler³⁾; Neubauer-Huppert⁴⁾; Spaeth⁵⁾] gerühmte Worm Müller'sche Zuckerprobe zugrunde gelegt und die Erscheinung der Unterschiede in der Reaktionsgeschwindigkeit, die bei Anstellung dieser Probe mit Harnen von verschiedenem Zuckergehalt zu beobachten sind, experimentell weiter verfolgt.

Um immer mit ein und demselben Volumen des Reaktionsgemisches zu arbeiten, habe ich stets zu 5 ccm Harn eine Mischung von 2,5 ccm alkalischer Seignettesalzlösung und 2 ccm Kupfersulfatlösung (vgl. S. 166 und Anm. 1 S. 170) gegeben. Im übrigen habe ich mich aber ganz an die Worm Müller'sche Vorschrift (vgl. S. 166) gehalten. Dabei hat sich eine augenfällige Gesetzmässigkeit in der Zeitdauer, vom Augenblick des Zusammengiessens der heissen Reaktionsflüssigkeiten ab gerechnet bis zum deutlich erkennbaren Beginn einer etwaigen Zuckerreaktion, gezeigt. Als ich z. B., in mehrfach wiederholten Versuchen, von einem normalen Harn, der nach der Worm Müller'schen Zuckerprobe erst nach $\frac{1}{4}$ oder $\frac{1}{2}$ Stunde schwache Reaktion gab, einzelne Portionen durch Zusatz entsprechender Mengen reinen, getrockneten Traubenzuckers auf 0,5 bzw. 0,25 bzw. 0,1 bzw. 0,04 bzw. 0,02 % (Mehr-)Zuckergehalt brachte und von diesen künstlichen Zuckerharnen jeweils 5 ccm nach Worm Müller's Vorschrift durch Zusatz einer Mischung von 2,5 ccm alkalischer Seignettesalzlösung und 2 ccm 2,5 %iger Kupfersulfatlösung der Zuckerreaktion

Chemie Bd. 46 S. 371 ff. 1905]), und Strauss (Münch. med. Wochenschr. Heft 2 S. 85. 1912) hat gefunden, dass der stark zuckerhaltige Harn eines mit Jodthion-Einreibungen behandelten Diabetikers keine positive Nylander-Reaktion gab, während er auf Fehling'sche Lösung und das Polarimeter stark reagierte.

1) E. Pflüger, Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. 124 S. 6. 1908.

2) W. Ebstein und J. Schwalbe, Handb. d. prakt. Med. Bd. 4 S. 496. Stuttgart 1906.

3) F. Hoppe-Seyler und Thierfelder, Handb. d. physiol. u. pathol.-chem. Anal. S. 95. Berlin 1903.

4) C. Neubauer und H. Huppert, Analyse des Harns S. 311. Wiesbaden 1910.

5) E. Spaeth, Chem. und mikroskop. Untersuchung des Harns S. 269. Leipzig 1908.

unterwarf, wurde die Reaktion in der Regel beim ersten der obigen Zuckerharne nach 6—7, beim zweiten nach 9—10, beim dritten nach 19—21 Sekunden, beim vierten nach $1\frac{1}{4}$ — $1\frac{1}{2}$ und beim fünften nach 6—10 Minuten erkennbar.

Diese Wahrnehmung bestärkte in mir die Hoffnung, es möchte vielleicht die Worm Müller'sche Zuckerprobe zu einer quantitativ verwertbaren Zeitreaktionsmethode ausgebaut werden können.

Die Erkennung des Beginns der Reaktion war aber bei meinen damaligen Versuchen¹⁾ durch die neben einer etwaigen Zuckerreaktion hergehende Ausscheidung von Harnphosphaten bald mehr, bald weniger stark beeinträchtigt und ausserdem hatte ich, wenn ich in der auf S. 168 geschilderten Weise zuckerarme Harne der Reaktion unterwarf, des öfteren eine mehr oder minder auffällige Entfärbung des Reaktionsgemisches²⁾ und eine damit Hand in Hand gehende Verzögerung der Ausscheidung des Kupferoxydulhydrats (vgl. S. 166) beobachtet. Bei den späteren Versuchen habe ich diesem doppelten Übelstand tunlichst dadurch abzuhelpen gesucht, dass ich nach Schöndorff's³⁾ Vorgang die lästigen Erdphosphate⁴⁾ vor Anstellung des Reaktionsversuchs aus den Harnen ausgeschieden habe, und dass ich durch Verwendung von 2 ccm einer 5 %igen Kupfersulfat-

1) Von Schöndorff's (Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. 121 S. 572 ff. 1908) Veröffentlichung, in der auch die Ausfällung der Erdphosphate aus dem Harn erwähnt wird, hatte ich zu jener Zeit noch keine Kenntnis.

2) Die bei manchen zuckerarmen Harnen beobachtete Entfärbung des Reaktionsgemisches vor einer Ausscheidung von Kupferoxydulhydrat wies deutlich darauf hin, dass die angewandte Menge Kupferoxydes nicht immer genügte zur Oxydation sowohl des im Harn enthaltenen Zuckers als namentlich auch der reduzierenden (und kupferoxydul lösenden) Nichtzuckersubstanzen. Wenn aber schon bei Kupferoxydüberschuss wenigstens ein Teil dieser Nichtzuckersubstanzen eine lösende und somit reaktionshemmende Wirkung auszuüben vermag (vgl. Anm. 2 S. 165), so ist dies natürlich bei Mangel an Kupferoxyd in noch verstärktem Maass der Fall.

3) B. Schöndorff, Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. 121 S. 575 f. 1908.

4) Die schon von Worm Müller (Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. 27 S. 115 f. 1882) erwähnte Beobachtung, dass die Erdphosphate sich bei gesteigertem Kupfersulfatzusatz langsamer absetzen als bei kleinerem Zusatz, und dann der Erkennung der Zuckerreaktion — besonders bei sehr geringem Zuckergehalt eines Harns — recht hinderlich werden können, habe ich durch meine Versuche bestätigt gefunden.

lösung¹⁾ — an Stelle der von Worm Müller vorgeschriebenen 2 $\frac{1}{2}$ %igen — der reaktionshemmenden Wirkung der Nichtzuckersubstanzen entgegengetreten bin. Durch die letztere Maassnahme brachte ich für alle Fälle einen mässigen Kupferoxydüberschuss in das Reaktionsgemisch, der seinerseits, wie ich mich überzeugt habe, nach vorausgegangener Entfernung der Erdphosphate aus den Harnen, die Erkennung der Zuckerreaktion nicht mehr beeinträchtigt hat.

Die Konzentration der Harne in bezug auf die reduzierenden und kupferoxydullösenden Nichtzuckersubstanzen (namentlich in bezug auf das Kreatinin; vgl. Anm. 2 S. 165) beeinflusste nun bei einem Zuckergehalt der Harne von etwa 0,06 % an aufwärts die Reaktionszeit nicht mehr wesentlich, und der Moment des Eintritts der erkennbaren Reaktion war in der Hauptsache nur noch von dem Prozentgehalt der Harne an Zucker abhängig.

Wenn aber Harne, deren Zuckergehalt unter ca. 0,06 % betrug, der Zeitreaktion unterworfen wurden, so machten sich diese Nichtzuckersubstanzen unter Umständen doch noch reaktionshemmend geltend, und zwar im allgemeinen um so mehr, je höher das spezifische Gewicht des betreffenden Harns und je geringer sein Zuckergehalt war, je mehr also die Nichtzuckersubstanzen über den Zucker dominierten. Bei konzentrierten Harnen trat nämlich die Zuckerreaktion später ein als bei niedergestellten, wenngleich alle diese Harne, nach vorgenommener Vergärung, durch Traubenzuckerzusatz auf ein und denselben (niederen) Gehalt

1) Auf die Wichtigkeit der Einhaltung bestimmter enger Grenzen für die Reaktionstemperatur hat bereits Worm Müller (Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. 27 S. 114. 1882) bei Besprechung seiner Zuckernachweismethode hingewiesen, und Hammarsten (Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. 116 S. 528 ff. 1907) hat experimentell gezeigt, dass der Ausfall der Worm Müller'schen Probe von der Reaktionstemperatur sehr abhängig ist, und dass eine Änderung der Volumina der Reaktionsflüssigkeiten die Temperatur des Gemisches ganz wesentlich ändern kann. Aus diesen naheliegenden Gründen musste ich, wenn eine auf Zeitreaktion basierte quantitative Zuckerbestimmungsmethode überhaupt Anspruch auf Zuverlässigkeit erlangen und praktischen Wert bekommen sollte, daran festhalten, dass die Reaktion stets unter den gleichen Temperaturverhältnissen und somit auch mit immer gleichen Flüssigkeitsmengen durchgeführt wird.

an Traubenzucker gebracht worden waren, und meist blieb bei einem spezifisch schweren Harn, der nur 0,025 oder gar nur 0,02 % Zucker enthielt, die Zuckerreaktion ganz aus, während sie in einem Harn mit niederem spezifischem Gewicht bei 0,02 % Zuckergehalt in durchschnittlich 4—5 Minuten eintrat. Die soeben erwähnte störende Beeinflussung seitens der Nichtzuckersubstanzen liess sich, wie beinahe zu erwarten war, in befriedigender Weise dadurch auf ein Mindestmaass verringern, dass alle zur Untersuchung gelangenden Harne vor der Versuchsanstellung durch Verdünnung mit Wasser möglichst auf ein und dasselbe niedere spezifische Gewicht gebracht wurden. Versuche, die ich in dieser Richtung gemacht habe, liessen es mir am zweckmässigsten erscheinen, Harne mit einem höheren spezifischen Gewicht als 1,0045 zur Zeitreaktion nicht ohne weiteres zu verwenden. Ich habe deshalb die zu den nächstfolgenden Versuchen dienenden Harne, soweit sie nicht schon das spezifische Gewicht 1,0045 oder darunter hatten, vor Anstellung der Zeitreaktion mit Wasser auf das spezifische Gewicht **1,0045** (auf 15° C. bezogen) verdünnt.

Zunächst galt es jetzt, aus derart verdünnten Harnen **Normen für die Zeitreaktion bei verschiedenem Zuckergehalt** zu bekommen. Zu diesem Zweck habe ich frische, normale, sauer reagierende, eiweiss- und medikamentfreie Harne verschiedener Herkunft und verschiedenen spezifischen Gewichts nach Zusatz frischer Presshefe (50 g auf 1 Liter Harn) bei 33—36° C. vollständig vergären lassen (Gärdauer 12 bis längstens 24 Stunden). Vorsichtshalber wurden zuvor den nur schwach sauer reagierenden Harnen 20—30, den stärker sauer reagierenden 10 Tropfen Eisessig pro Liter zugesetzt, um das Eintreten einer ammoniakalischen Gärung tunlichst zu verhüten. Nach dem Erkalten wurden die Harne vom Hefesatz abgossen, mit Kieselgur (ca. 10 Messerspitzen voll auf 1 Liter Harn) tüchtig geschüttelt und klar filtriert. Die Filtrate habe ich dann, soweit sie nicht bereits ein spezifisches Gewicht von 1,0045 oder darunter hatten, mit Wasser auf das spezifische Gewicht **1,0045** (auf 15° C. bezogen) verdünnt. Aus diesen zuckerfreien und eventuell, wie beschrieben, verdünnten Harnen sind die Erdphosphate durch Zusatz von 30 % iger Natronlauge (120 Tropfen = ca. 6,5 ccm auf 1 Liter — eventuell verdünnten — Harns), Schütteln mit Kieselgur (wie oben) und Filtration abgeschieden worden. Nachdem die alkalisch reagierenden Filtrate

jeweils, nach Zusatz von Lackmustinktur (100 Tropfen = ca. 6,5 ccm auf 1 Liter Filtrat), tropfenweise mit Eisessig¹⁾ versetzt worden waren, bis die blaue Färbung eben in Rot umgeschlagen war, wurde ihnen zwecks Sterilisierung Chloroform (2,5 ccm = ca. 150 Tropfen auf 1 Liter Flüssigkeit) zugesetzt.

Aus den so gewonnenen zucker- und erdphosphatfreien, spezifisch leichten, schwach angesäuerten und sehr haltbaren

„Verdünnungsharnen“ — ich will ihnen der Kürze halber diese Bezeichnung geben — habe ich durch Auflösen entsprechender Mengen reinen, bei 100° C. getrockneten Traubenzuckers Reaktions-Zuckerharnen mit einem Zuckergehalt von genau 0,5; 0,4; 0,3; 0,25; 0,2; 0,175; 0,15; 0,14; 0,13; 0,12; 0,11; 0,10; 0,09; 0,08; 0,07; 0,06; 0,055; 0,05; 0,045; 0,04; 0,035; 0,03; 0,029; 0,028; 0,027; 0,026; 0,025; 0,024; 0,023; 0,022; 0,021 und 0,020 % (oder richtiger gesagt: ebensoviele Gramm Zucker in 100 ccm Lösung) hergestellt. Die Lösungen dienten mir zu folgenden — mit ein und demselben Zuckerharn öfters wiederholten — Versuchen: In einem Reagenzglas (A) wurden 5 ccm des betreffenden Zuckerharns nach Zusatz von 3 Tropfen 10%iger Essigsäure²⁾ (um dadurch einer Zersetzung des Zuckers beim Kochen sicher vorzubeugen; vgl. Schöndorff³⁾), und in einem zweiten Reagenzglas (B) daneben eine Mischung von 2,5 ccm alkalischer Seignettesalzlösung und 2 ccm 5%iger Kupfervitriollösung⁴⁾ gleichzeitig zum Kochen

1) Auf 1 Liter Filtrat werden etwa 50–120 Tropfen Eisessig bis zum Eintritt der schwach sauren Reaktion benötigt.

2) 10%ige Essigsäure stellt man her, indem man 10 ccm Eisessig mit Wasser auf 100 ccm Flüssigkeit auffüllt.

3) B. Schöndorff, Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. 121 S. 589. 1908.

4) Alkalische Seignettesalzlösung wird wie folgt bereitet: Man löst in einem Becherglas 100 g reinen Seignettesalzes in ca. 200 ccm Wasser, in einem zweiten 40 g reinen Natriumhydroxyds in 100 ccm Wasser und erhitzt die Lösungen — jede für sich — zum Kochen. Nach dem Erkalten werden beide Flüssigkeiten in einen 1-Liter-Messkolben zusammengespült. Dann füllt man den Kolben mit Wasser bis zur Marke auf. Eine etwa nötige Filtration geschieht durch Glaswolle.

5%ige Kupfervitriollösung erhält man durch Auflösen von 50 g reinen, luftgetrockneten Kupfervitriols in Wasser bei gelinder Wärme und Auffüllen der erkalteten Lösung im Messkolben mit Wasser auf 1 Liter Flüssigkeit. Dann wird durch Papierfilter klar filtriert.

Beide Lösungen werden getrennt aufbewahrt und jeweils zum Gebrauch aus den grossen Vorratsflaschen nach Bedarf in Stöpselgläser von 100 bis 150 ccm Inhalt verfüllt. Die zum Abmessen (der für jede Reaktion erforderlichen

erhitzt und etwa eine Minute lang kochend erhalten. Dann wurde die Erhitzung beider Gläser gleichzeitig abgebrochen und nach einer Wartezeit von genau 20 Sekunden der Inhalt von Reagenzglas B in das Reagenzglas A gegossen. Hierauf wurde letzteres kurz geschüttelt und beobachtet. Die Zahl der Sekunden, welche es bei den verschiedenen Zuckerharnen vom Augenblick des Mischens bis zum deutlich erkennbaren Eintritt der Zuckerreaktion¹⁾ dauerte, wurde mittels Taktmessers²⁾ gezählt und auf Millimeterpapier in Mittelwerten³⁾ auf die (vertikale) Ordinatenachse, die zur betreffenden Reaktionszeit gehörige Zuckerprozentzahl auf die (horizontale) Abszissenachse aufgetragen. So erhielt ich die

Zeitreaktionskurve I. (Taf. I.) Wie man aus deren Verlauf
ersehen kann, verschlechtert sich, sobald der Zucker-

Mengen) bestimmten Vollpipetten habe ich mit den Spitzen durch Gummistopfen, die auf Arzneigläser von 125—150 ccm Inhalt passen, gesteckt, so dass ich die Pipetten, solange ich sie nicht benötige, durch Einsetzen in die Arzneigläser vor Verstauben und Vertrocknen der Spitzen schützen kann und jederzeit gebrauchsfertig habe, ohne sie allemal nach Gebrauch waschen und trocknen zu müssen.

1) Zuckerreaktion. Diese gibt sich bei höherem Zuckergehalt durch einen plötzlichen Farbumschlag des anfänglichen Dunkelblaus in ein leuchtendes Grün und durch einen alsbald ausfallenden grünen bis gelben, später in Orange bis Rot übergehenden Niederschlag von Kupferoxydul, bei niedererem Zuckergehalt durch eine zuerst als feiner, bläulich opalisierender Nebel erkennbare, meist ohne Verzug dichter werdende und dann in der Regel blaugrün bis gelbgrün erscheinende Ausscheidung von zunächst suspendiert bleibenden, nach kürzerer oder längerer Zeit sich oft gelb absetzenden, hydratischen Kupferoxydulverbindungen kund.

Unter höherem Zuckergehalt ist bei diesen aus „Verdünnungsharnen“ (vgl. S. 172) hergestellten Zuckerharnen ein Gehalt von ca. 0,1 % Traubenzucker und mehr, unter niedererem Zuckergehalt ein solcher von weniger als 0,1 % zu verstehen.

2) Taktmesser. Als solchen benütze ich mit Vorteil ein lauttickendes, auf Sekundentakt eingestelltes Metronom, wie es für musikalische Übungszwecke Anwendung findet. Ausserdem habe ich noch neben dem Bunsenbrenner eine Uhr mit Sekundenzeiger aufgehängt.

3) Die Resultate der einzelnen Parallelversuche waren im allgemeinen gut übereinstimmend, d. h. es war zwischen Harnen, die ursprünglich ganz verschiedenes spezifisches Gewicht hatten, nachdem sie, wie oben erwähnt, durch Vergärung von jeder Spur nativen Zuckers befreit, dann eventuell verdünnt (vgl. S. 171) und auf den gleichen (künstlichen) Zuckergehalt gebracht waren, keine oder eine nicht sehr bedeutende Differenz in der Reaktionszeit zu konstatieren.

gehalt eines (eventuell verdünnten) Harns unter ca. **0,02 %** sinkt, zusehends die Möglichkeit, den Zucker auf die angegebene Weise zu bestimmen. Der aufsteigende Ast der Kurve I nähert sich von ca. 0,022 % ab sehr schnell der Vertikalen; die Reaktionszeit, d. h. die Dauer bis zum Eintritt der Zuckerreaktion, wächst rapid. Zweifellos macht sich da die reaktionshemmende Wirkung der wieder zur Vorherrschaft gelangenden Nichtzuckersubstanzen geltend (vgl. S. 165 und S. 170).

Es war mir jedoch sehr darum zu tun, dass (in den eventuell verdünnten Harnen) auch **kleinste, also unter 0,02 % liegende Zuckerwerte** rasch und mit weitgehender Genauigkeit nach dem Zeitreaktionsverfahren quantitativ ermittelt werden können. Der Zweck wurde dadurch erreicht, dass ich dem Verfahren noch eine kleine **Modifikation** gab, die in dem **Zusatz einer genau bemessenen kleinen Menge Traubenzuckerlösung von bestimmtem niederem Zuckergehalt** zu den zu untersuchenden und, soweit nötig, verdünnten Harnen besteht (s. das Nähere S. 177/178). Dieser künstliche Zuckerzusatz bewirkt eine geringe Verschiebung der Zeitreaktionskurve I und rückt auch die kleinsten Zuckerwerte in ein günstiges Messbereich.

Der

Gang der quantitativen Untersuchung eines Harns auf Zucker mittels Zeitreaktion ist nun folgender: Die ersten vorbereitenden Arbeiten mit dem frischen¹⁾, klaren,

1) Frisch, d. h. nicht durch Zersetzung beeinträchtigt, muss der Harn, der auf Zucker untersucht werden soll, unbedingt sein. Falls man nicht in Bälde die Probe damit vornehmen kann, ist der Harn zu sterilisieren. Als sehr gut und zweckmässig und die Zeitreaktion nach meinen Erfahrungen in keiner Weise beeinträchtigend kann ich die schon auf S. 172 erwähnte Sterilisierung mit Chloroform empfehlen (vgl. Neubauer und Huppert [Analyse des Harns S. 31. Wiesbaden 1910]). Für eine mit sterilisiertem Harn etwa noch auszuführende Gärprobe müsste natürlich das Chloroform zuvor sorgfältigst entfernt werden (vgl. Spaeth [Chem. und mikroskop. Untersuchung des Harns S. 274. Leipzig 1908]).

Bei einem Harn, in dem sich bereits Hefegärung oder eine bakterielle Zersetzung eingeleitet hat, kann die quantitative Zuckerbestimmung kein richtiges Resultat mehr geben, weil dann ein mehr oder

eventuell mit Zuhilfenahme von Kieselgur (vgl. S. 175) filtrierten Harn sind die

Feststellung des spezifischen Gewichtes¹⁾ (auf 15° C. bezogen) und die

Prüfung auf Eiweiss und eventuelle Ausscheidung des letzteren²⁾.

Dann folgt die — meist erforderliche —

Verdünnung des (wenn nötig, enteiwaissten) Harns auf das spezifische Gewicht **1,005**; Harne mit einem spezifischen Gewicht von 1,005 (auf 15° C. bezogen) und darunter werden un-

minder grosser Teil des Harnzuckers zerstört ist, und weil sich unter der Wirkung von Fermenten aus den stickstoffhaltigen Harnsubstanzen, namentlich aus dem Harnstoff (vgl. Salkowski und Leube [Lehre vom Harn S. 3. Berlin 1882], Sahli [Lehrb. d. klin. Untersuchungsmethoden S. 663. Leipzig und Wien 1909] und andere Lehrbücher), Ammoniakverbindungen gebildet haben können, die bei der Zeitreaktion reaktionshemmend wirken und dadurch die Zuckerwerte kleiner erscheinen lassen, als sie in Wirklichkeit sind.

1) Feststellung des spezifischen Gewichtes. Diese geschieht am einfachsten mittels eines von 1,000—1,060 zeigenden Aräometers Urometer). Man liest an der unteren Grenze des Meniskus ab. Ist der Harn wärmer als 15° C., so ist für je 3° Temperaturdifferenz 1 Aräometergrad zu addieren; ist er kälter, zu subtrahieren.

2) Eiweiss. Zur Prüfung des Harns hierauf empfiehlt sich die einfache Kochprobe: 5 ccm des ganz klaren Harns werden mit 1—2 Tropfen Lackmustinktur und, bei neutraler oder alkalischer Reaktion, vorsichtig tropfenweise mit 10%iger Essigsäure (vgl. Anm. 2 S. 172) versetzt, bis eben Rotfärbung eintritt. Dann wird kurz gekocht. Schlägt dabei die Farbe der Flüssigkeit in Violett oder Blau zurück, so setzt man, behufs Wiederansäuerung und Lösung etwa doch noch ausgeschiedener Erdphosphate, vorsichtig nochmals 1, höchstens 2—3 Tropfen 10%iger Essigsäure zu und kocht wiederum kurz auf.

Ein Eiweissgehalt, der hiebei nur schwache Trübung verursacht, schadet bei der Zeitreaktion nicht. Bei stärkerer Trübung ist das Eiweiss vor Anstellung der Zeitreaktion zu entfernen. Man gibt zu diesem Zweck in ein 500-ccm-Becherglas 100 ccm Harn und wägt Glas mit Inhalt auf guter Wage. Dann setzt man 10—20 Tropfen Lackmustinktur und, sofern erforderlich, tropfenweise Eisessig zu, bis sich die Flüssigkeit eben rötet. Hierauf erhitzt man das Becherglas über kleiner Flamme auf dem Asbestdrahtnetz langsam zu gelindem Kochen des Inhalts, wobei eine flockige Ausscheidung des Eiweiss — wenn nötig, auf weiteren vorsichtigen Zusatz von Eisessig — erzielt wird. Nach dem Erkalten wird Glas samt Inhalt wieder gewogen und der durch Verdampfung entstandene Gewichtsverlust durch Zusatz einer entsprechenden Menge Wassers (am einfachsten aus einer automatischen Bürette; vgl. Anm. 1 S. 176) ersetzt.

verdünnt in weitere Behandlung genommen, solche mit höherem spezifischen Gewicht nach der

Verdünnungstabelle mit Wasser auf das spezifische Gewicht 1,005 verdünnt¹⁾.

Verdünnungstabelle.

a. Ursprüngliches spezifisches Ge- wicht des Harns (auf 15° C. be- zogen)	b. Zur Verdünnung des Harns auf das spezifi- sche Gewicht 1,005 sind zu mischen		c. Ver- dünnungs- faktor	d. Die Zeitreaktion liefert noch gut verlässliche Resul- tate, wenn die Reaktionszeit mindestens beträgt zirka Sekunden
	Harn ccm	mit Wasser ccm		
1,005 (u. weniger)	—	—	1,0	10
1,006	30	6	1,2	11
1,007	30	12	1,4	12
1,008	30	18	1,6	13
1,009	20	16	1,8	14
1,010	20	20	2,0	15
1,011	20	24	2,2	16
1,012	20	28	2,4	16
1,013	20	32	2,6	17
1,014	20	36	2,8	17
1,015	20	40	3,0	18
1,016	20	44	3,2	18
1,017	20	48	3,4	19
1,018	10	26	3,6	19
1,019	10	28	3,8	20
1,020	10	30	4,0	20
1,021	10	32	4,2	21
1,022	10	34	4,4	21
1,023	10	36	4,6	22
1,024	10	38	4,8	22
1,025	10	40	5,0	23
1,026	10	42	5,2	23
1,027	10	44	5,4	23
1,028	10	46	5,6	24
1,029	10	48	5,8	24
1,030	10	50	6,0	24
1,031	10	52	6,2	24
1,032	10	54	6,4	25
1,033	10	56	6,6	25
1,034	10	58	6,8	25
1,035	10	60	7,0	25
1,036	5	31	7,2	26
1,037	5	32	7,4	26
1,038	5	33	7,6	26

1) Verdünnung des Harns. Die in der Verdünnungstabelle vorgeschriebene Menge Harn wird mittels Vollpipette abgemessen, das erforderliche Quantum Wasser sehr zweckmässig einer automatischen Bürette nach Dr. Goeckel (s. Abbildung bei Spaeth [Chem. und mikroskop. Untersuchung des Harns S. 44. Leipzig 1908]) entnommen. Die Mischung nehme ich in einem 100-ccm-Erlenmeyer-Kölbchen vor.

a.	b.		c.	d.
Ursprüngliches spezifisches Gewicht des Harns (auf 15° C. bezogen)	Zur Verdünnung des Harns auf das spezifische Gewicht 1,005 sind zu mischen		Verdünnungsfaktor	Die Zeitreaktion liefert noch gut verlässliche Resultate, wenn die Reaktionszeit mindestens beträgt zirka Sekunden
	Harn ccm	mit Wasser ccm		
1,039	5	34	7,8	26
1,040	5	35	8,0	26
1,041	5	36	8,2	27
1,042	5	37	8,4	27
1,043	5	38	8,6	27
1,044	5	39	8,8	27
1,045	5	40	9,0	27
1,046	5	41	9,2	28
1,047	5	42	9,4	28
1,048	5	43	9,6	28
1,049	5	44	9,8	28
1,050	5	45	10,0	28
1,051	5	46	10,2	29
1,052	5	47	10,4	29
1,053	5	48	10,6	29
1,054	5	49	10,8	29
1,055	5	50	11,0	29
1,056	5	51	11,2	30
1,057	5	52	11,4	30
1,058	5	53	11,6	30
1,059	5	54	11,8	30
1,060	5	55	12,0	31

Hierauf kommt die

Ausscheidung der Erdphosphate. Man pipettiert 25 ccm des Harns vom spezifischen Gewicht 1,005 (oder eventuell darunter; s. S. 175/176) in ein Reagenzglas 160 × 18 mm, gibt 3 Tropfen 30 %iger Natronlauge¹⁾ und zirka zwei Federmesserspitzen voll Kieselgur dazu, schüttelt gut durch und filtriert klar durch Papierfilter.

Nun misst man, zum Zweck der Harnzuckerbestimmung mittels Zeitreaktion, in einer Vollpipette genau 4,5 ccm des Filtrats in ein Reagenzglas (A) 140 × 16 mm [mit Fingerschutz²⁾], gibt dazu

1) 30 %ige Natronlauge wird durch Auflösen von 30 g reinen Natriumhydroxyds in Wasser in einem 100-ccm-Messkolben, Auffüllen auf 100 ccm Flüssigkeit und Filtration durch Glaswolle hergestellt. Als ein für diese Natronlauge besonders geeignetes Tropfglas dient mir ein 100-ccm-Arzneiglas mit Gummistopfen, durch dessen Bohrung ein Tropfröhrchen mit aufgesetztem Gummibällchen gesteckt ist.

2) Fingerschutz. Über das Reagenzglas wird ein 4—5 cm langes Stück eines gut elastischen, widerstandsfähigen Gummischlauches von 3—4 mm Wandstärke — mittels Seifenbreies als Gleitmittel — derart übergeschoben, dass es

(mit einer kleinen Vollpipette) genau **0,5** ccm einer sterilisierten **0,2 %** igen Traubenzuckerlösung¹⁾ und (aus einem Tropfglas) **1** Tropfen Lackmustinktur. Diese Mischung versetzt man (wiederum aus einem Tropfglas) tropfenweise mit 10 % iger Essigsäure (vgl. Anm. 2 S. 172), bis eben die blaue Farbe der Flüssigkeit in Rot umschlägt²⁾ und sodann noch mit weiteren **3** Tropfen 10 % iger Essigsäure, um dadurch eine Zersetzung der Harnbestandteile beim Kochen zu verhüten (vgl. S. 14). Ein zweites Reagenzglas (B) 140 × 16 mm (mit Fingerschutz) wird mit **2,5** ccm alkalischer Seignettesalzlösung und **2** ccm 5 % iger Kupfervitriollösung (vgl. Anm. 4 S. 172) beschickt; der dabei entstehende Niederschlag von Kupferoxydhydrat löst sich rasch wieder.

Nach Ingangsetzung des Taktmessers (vgl. Anm. 2 S. 173) werden die Reagenzgläser A und B unter rhythmisch-schüttelnder Bewegung

ungefähr das obere Viertel bis Drittel des Reagenzglases fest anliegend umschliesst. Diese Umhüllung bleibt dauernd auf dem Glas und schützt, vermöge ihrer schlechten Wärmeleitung, die Finger vorzüglich gegen Verbrennung, so dass man anstandslos das Glas mit seinem kochenden Inhalt mit den blossen Fingern anfassen und leicht und sicher handhaben kann, ohne die oft hinderlichen Zangen oder dergleichen zu benötigen.

Für die Arbeit bei der Zeitreaktion hat sich der beschriebene Fingerschutz sehr bewährt; er lässt sich aber ebenso gut und vorteilhaft auch für andere Kochzwecke (z. B. bei der Kochprobe auf Eiweiss und bei der Nylander'schen Zuckerprobe) und für anders gestaltete Kochgefässe (wie z. B. Kochflaschen usw. anwenden. Für Reagenzgläser bzw. Kolbenhälse von 16—20 mm äusserem Durchmesser benütze ich in der Regel Schlauchstücke von 15 mm Lichtweite und 22 mm äusserem Durchmesser, für Reagenzgläser bzw. Kolbenhälse von 20 - 25 mm äusserem Durchmesser Schlauchstücke von 18 mm Lichtweite und 26 mm äusserem Durchmesser.

1) Sterilisierte 0,2 % ige Traubenzuckerlösung stellt man sich her, indem man reinsten, möglichst kristallwasserfreien Traubenzucker bei 100° C. bis zur Gewichtskonstanz trocknet und hiervon 2 g in Wasser löst, die Lösung in einen 1-Liter-Messkolben spült und — nach Zusatz von 2,5 ccm Chloroform und Auffüllen des Kolbens mit Wasser bis zur Marke — das Gemisch etwa einen Tag lang unter öfterem Durchschütteln verschlossen stehen lässt, bis sich das Chloroform vollständig gelöst hat.

Diese Zuckerlösung wird aus der grossen Vorratsflasche zum Gebrauch nach Bedarf in ein Glas von ca. 100 ccm Inhalt verfüllt. Mit Rücksicht auf die Flüchtigkeit des Chloroforms ist sowohl die grosse Vorratsflasche als das kleine Glas mittels Korkstopfens stets gut verschlossen zu halten.

2) Es sind hierzu erfahrungsgemäss 1 bis höchstens 3 Tropfen 10 % iger Essigsäure nötig.

in ziemlich grosser Bunsen- (oder Weingeist-)flamme erhitzt, bis ihr Inhalt kocht. Nun setzt man das Kochen ca. 60 Sekunden lang fort. Dann wird die Erhitzung beider Reagenzgläser gleichzeitig unterbrochen. Von diesem Moment ab zählt man mit dem Taktmesser auf 20, und mit dem nächsten (21.) Sekundenschlag, mit welchem man aufs neue von 1 ab die Sekundenschläge zu zählen beginnt, giesst man den Inhalt von Reagenzglas B zu dem Inhalt von Reagenzglas A. Hierauf wird die Mischung in A durch kurzes kräftiges Schwenken des Glases noch gut gemengt und — am besten neben einem Reagenzglas mit klarer Vergleichsflüssigkeit¹⁾ — bei gutem, zerstreutem, von der Seite einfallendem Tageslicht vor einem dunkeln Hintergrund beobachtet. Das Zählen der Sekundenschläge nimmt mittlerweile seinen ungestörten Fortgang.

In kürzerer oder längerer Zeit, spätestens nach Verfluss von ± 260 Sekunden, beginnt die Zuckerreaktion (vgl. Anm. 1 S. 173). Die Zahl der Sekunden bis zum deutlich erkennbaren Beginn der Zuckerreaktion bildet den Maassstab für den prozentualen Zuckergehalt des nach obiger Vorschrift (eventuell verdünnten und) vorbereiteten Harns.

Die Zeitreaktionskurve I (Taf. I) kann aber nun nicht mehr zum direkten Ablesen des Prozentgehalts verwendet werden, da — anstatt den dieser Kurve I zugrundegelegten 5 ccm der auf das spezifische Gewicht 1,0045 verdünnten und dann mit Zucker versetzten Harne (vgl. S. 171 f.) — jetzt stets eine Mischung von 4,5 ccm ($= \frac{9}{10} \times 5$ ccm) des auf das spezifische Gewicht 1,005 verdünnten Harns und 0,5 ccm ($= \frac{1}{10} \times 5$ ccm) 0,2 %iger Traubenzuckerlösung zur Zeitreaktion benutzt wird (vgl. S. 177/178).

1) Vergleichsflüssigkeit. Eine solche ist leicht auf die Weise herzustellen, dass man 4,5 ccm eines beliebigen, normalen, auf das spezifische Gewicht 1,005 gebrachten und von Erdphosphaten befreiten Harns (vgl. S. 175 ff.) in einem Reagenzglas 140 $\times$ 16 mm — anstatt mit Zuckerlösung — mit 0,5 ccm Wasser, ferner mit 1 Tropfen Lackmustinktur versetzt und hiezu in der Kälte 2,5 ccm alkal. Seignettesalzlösung und 2 ccm 5 %ige Kupfervitriollösung (vgl. S. 178) gibt. Hierauf wird das Reagenzglas mit Gummistopfen verschlossen. Diese Vergleichsflüssigkeit hält sich, wenn sie gegen Sonnenlicht und Wärme geschützt wird, sehr lange Zeit klar und bewahrt ihre ursprüngliche blaue Farbe wochenlang.

Wollte man die Kurve I (Taf. I) zur Feststellung des Zucker-
gehaltes eines nach der Vorschrift S. 174 ff. vorbereiteten Harnes ge-
brauchen, so müsste man zunächst von der an Kurve I abgelesenen
Prozentzahl den Zusatzzucker mit $\frac{1}{10} \times 0,2\% = 0,02\%$ in Abzug
bringen und den verbleibenden Rest mit $\frac{10}{9}$ multiplizieren, um auf
den wirklichen Zuckerwert des nach der Verdünnungstabelle
verdünnten Harns zu kommen¹⁾.

Diese Rechenarbeit ist erspart, wenn man sich der
Zeitreaktionskurve II („Zuckerkurve“) (Taf. I) bedient, die sich
durch entsprechende Umrechnung der Zuckerwerte aus Kurve I
ergeben hat und den Prozentgehalt der (eventuell verdünnten)
Harne an Zucker **direkt** anzeigt.

Eine kleine Rechenarbeit bleibt natürlich nicht erspart, nämlich
die Vervielfältigung der mit Hilfe der „Zuckerkurve“ (Taf. I) ge-
fundenen Prozentzahl mit dem in Spalte c der Verdünnungstabelle
(vgl. S. 176/177) eingesetzten Verdünnungsfaktor. Dadurch er-
hält man den **prozentualen Zuckergehalt des unverdünnten (ur-
sprünglichen) Harns**.

Der

Zeitaufwand für die geschilderte Harnzucker-
bestimmung mittels Zeitreaktion ist in der Regel kein
sehr erheblicher. Die Feststellung des spezifischen Gewichtes eines
Harns, die Kochprobe auf Eiweiss, die Verdünnung des Harns gemäss
Verdünnungstabelle, die Ausscheidung der Erdphosphate samt Filtra-
tion und die Beschickung der Reagenzgläser (vgl. S. 174 ff.) lassen
sich insgesamt in $\frac{1}{4}$ Stunde bequem ausführen, und dann nimmt ein
Zeitreaktionsversuch (vgl. S. 178 f.) ± 5 Minuten Zeit in Anspruch.
Wenn man also mit einem (verdünnten) Harn zwei bis drei Parallel-
versuche hintereinander macht, was ich bei wichtigen Untersuchungen
empfehlen möchte und wozu das Filtrat gut ausreicht, so hat man
mit einem Zeitaufwand von im ganzen 25—30 Minuten für die Harn-
zuckerbestimmung in einem Harn zu rechnen. Hat man mehrere
Harne zu gleicher Zeit in Behandlung, so ist der Zeitaufwand
für einen Harn noch geringer, da sich die — relativ die meiste Zeit
beanspruchende — Filtration bei den verschiedenen Harnen gleich-
zeitig erledigen lässt.

1) Zum Beispiel: Kurve I (Taf. I) gibt bei einer Reaktionszeit von
81 Sekunden einen Zuckergehalt von 0,030 % an. Von dieser Zahl sind zunächst
abzuziehen 0,020 %. Der Rest, nämlich 0,010 %, ist mit $\frac{10}{9}$ zu multiplizieren.
Es resultiert als wirklicher Zuckerwert für den (verdünnten) Harn
ein Gehalt von 0,011 %. Genau diese Zahl ist an der Zeitreaktions-
kurve II („Zuckerkurve“) (Taf. I) bei einer Reaktionszeit von
81 Sekunden direkt abzulesen.

Bei obiger Zeitangabe ist Voraussetzung, dass die Harnklar (vgl. S. 174/175) zur Kochprobe sind, und dass sich bei letzterer keine erhebliche Eiweisstrübung ergibt, welche die vorherige Entfernung der Eiweisstoffe aus dem Harn erforderlich macht (vgl. Anm. 2 S. 175).

Zur Veranschaulichung dessen, was das beschriebene Verfahren der Harnzuckerbestimmung mittels Zeitreaktion¹⁾ ungefähr zu leisten vermag, führe ich im folgenden einige meinen Versuchen entnommene

Beispiele an:

Ia. Harn eines älteren, im allgemeinen seit Jahren auf „strengere Kost“ gesetzten „leichten“ Diabetikers²⁾, nach einer durchschnittlichen Kohlehydrateinnahme von ca. 100 g im Tag. — Gesamttagesharnmenge 1,50 Liter, fast klar, rotgelb, spezifisches Gewicht (bei 15° C.) 1,028, sauer, schwache Rheumreaktion, Eiweiss 0, Aceton 0, Polarimeter + 0,09 %:

Zwecks Bestimmung des in diesem Harn vorhandenen Harnzuckers mittels Zeitreaktion wurden nach der Verdünnungstabelle (S. 176/177, Spalte b) zu 10 ccm Harn 46 ccm Wasser gegeben. 25 ccm des so verdünnten Harns versetzte ich mit 3 Tropfen 30 % iger Natronlauge (ziemlich starke Phosphattrübung) und 2 Federmesserspitzen voll Kieselgur. Dann wurde geschüttelt und filtriert. Vom Filtrat pipettierte ich 4,5 ccm in ein Reagenzglas 140 × 16 mm (mit Fingerschutz). Dazu gab ich 0,5 ccm 0,2 % iger, sterilisierter Traubenzuckerlösung und 1 Tropfen Lackmustinktur. Zur leichten Ansäuerung dieser Mischung waren 2 Tropfen 10 % iger Essigsäure erforderlich. Der Vorschrift (vgl. S. 178) gemäss wurden hierauf 3 weitere Tropfen dieser Säure zugesetzt. Die Zeitreaktion, in drei Parallelversuchen durchgeführt, ergab als Reaktionszeiten 34, 34 und 35 Sekunden. Die erhaltenen Zeitzahlen entsprechen laut „Zuckerkurve“ (Taf. I) einem Zuckergehalt von 0,0435, 0,0435 und 0,0420 %, im Mittel 0,0430 %, des verdünnten Harns. Dieses Mittel, mit dem Verdünnungsfaktor 5,6 (Spalte c der Verdünnungstabelle) multipliziert, gibt für den ursprünglichen (unverdünnten) Harn einen Zuckergehalt von **0,241 %**, d. h. **3,62 g** in der Tagesharnmenge.

1) Die sämtlichen für diese Versuche und insbesondere für die Zeitreaktion benötigten Apparate und Geräte, wie Polarisationsapparat mit Patentbeobachtungsröhren, Brutschrank, Trockenschrank, Wage, Messkolben, Kochgefässe, Flüssigkeitsgläser, Büretten, Pipetten, Tropfgläser, Reagenzgläser, Urometer usw. hat mir die Firma Aug. Deckert, Stuttgart, Lindenstrasse 11, nach meinen speziellen Angaben zu meiner vollsten Zufriedenheit geliefert.

2) Im Harn dieses Diabetikers wurde vor etlichen Jahren, bei der zufälligen Entdeckung der Glykosurie anlässlich einer Halsentzündung, ein Zuckergehalt von 2—2½ % festgestellt.

Ib. Harn Ia, gemäss der auf S. 171 gegebenen Vorschrift durch Vergärung vollständig zuckerfreigemacht und, nach vorgenommener Sterilisation mittels Chloroforms, durch Zusatz von reinem, bei 100° C. getrocknetem Traubenzucker künstlich auf einen Zuckergehalt von genau 0,5 % gebracht: Die Zeitreaktion mit diesem sonst in gleicher Weise wie Ia vorbereiteten Harn ergab in drei Parallelversuchen die Zeitzahlen 19—20, 19 und 18—19 Sekunden, entsprechend einem Zuckergehalt von im Mittel (ca.) 0,0875 % des verdünnten und $3,6 \times (\text{ca.}) 0,0875 = (\text{ca.})$ **0,490 %** des unverdünnten Harns.

Ic. Harn Ia, vergoren und sterilisiert und sodann auf einen künstlichen Zuckergehalt von 0,1 % gebracht: Dieser Harn lieferte (im selben Verhältnis wie Ia verdünnt und auch sonst in gleicher Weise wie Ia vorbereitet) die Zeitzahlen 70, 63 und 66 Sekunden, entsprechend einem Zuckergehalt von 0,0150 bzw. 0,0180 bzw. 0,0166 %, d. h. von im Mittel 0,0165 % des verdünnten und **0,092 %** des unverdünnten Harns.

Id. Harn Ia, vergoren und sterilisiert und auf einen Zuckergehalt von 0,02 % gebracht: Die Zeitreaktion mit dem, wie oben, vorbereiteten Harn stellte sich ein in 125, 135 und 120 Sekunden. Diese Zahlen entsprechen einem Zuckergehalt von 0,0037 bzw. 0,0028 bzw. 0,0042 % oder im Mittel 0,0036 % des verdünnten und **0,020 %** des unverdünnten Harns.

IIa. Harn desselben Diabetikers, wie in Ia, nach zweitägiger vollständiger Enthaltung von Kohlehydraten. — Gesamttagesharnmenge 1,80 Liter, etwas Uratausscheidung, rotgelb, spezifisches Gewicht 1,018, sauer, Eiweiss 0, Aceton deutliche Spur, Polarimeter — 0,07 %:

Zur Feststellung des vorhandenen Harnzuckers durch Zeitreaktion wurde der Harn nach der Verdünnungstabelle (S. 176/177) im Verhältnis 10 ccm Harn zu 26 ccm Wasser verdünnt und der verdünnte Harn nach weiterer Vorbereitung, wie bei Ia geschildert, in drei Parallelversuchen der Zeitreaktion unterworfen. Als Zeitzahlen ergaben sich 170, 155 und 165 Sekunden. Hieraus berechnet sich nach der „Zuckerkurve“ (Taf. I) ein Zuckergehalt von im Mittel 0,0016 % für den verdünnten und $3,6 \times 0,0016 =$ **0,006 %** für den ursprünglichen Harn und eine Gesamtzuckermenge im Tagesharn von **0,11 g.**

Aus diesem Harn (vom spezifischen Gewicht 1,018) wurden, nachdem er durch Vergärung (vgl. S. 171) vollständig zuckerfrei gemacht und sodann sterilisiert worden war, durch Zusatz von reinem, bei 100° C. getrocknetem Traubenzucker ebenfalls künstliche Zuckerharn hergestellt, die nach entsprechender Vorbereitung (s. oben) der Zeitreaktion — jedesmal in drei Parallelversuchen — unterworfen wurden:

IIb. Harn IIa (vergoren und sterilisiert) mit 0,5 % Traubenzuckerzusatz: Die mit dem, wie oben, verdünnten Harn erhaltenen Zeitzahlen von 13—14 bzw. 13—14 bzw. 13 Sekunden entsprechen einem Zuckergehalt von im Mittel (ca.) 0,127 % des (auf das 3,6 fache) verdünnten oder $3,6 \times (\text{ca.}) 0,127 = (\text{ca.})$ **0,457 %** des unverdünnten Zuckerharns.

IIc. Harn IIa (vergoren und sterilisiert) mit **0,1 %** Traubenzuckerzusatz: Die Zeitreaktion trat bei diesem Harn, nach dessen Verdünnung auf das 3,6fache Volumen, in 50, 45 und 47 Sekunden ein. Hieraus berechnet sich für den verdünnten Harn ein Zuckergehalt von 0,0279 % und für den unverdünnten Harn ein solcher von **0,100 %** im Mittel.

IId. Harn IIa (vergoren und sterilisiert) mit **0,02 %** Traubenzuckerzusatz: Die hier, nach Verdünnung des Harns auf das 3,6fache Volumen, erhaltenen Zeitzahlen von 115, 110 und 106 Sekunden entsprechen einem Zuckergehalt von im Mittel 0,0053 % im verdünnten und **0,019 %** im unverdünnten Harn.

IIIa. Harn eines Gesunden. — Gesamttagesharnmenge 1,70 Liter, fast klar, blassgelb, spezifisches Gewicht 1,009, schwach sauer, Eiweiss äusserst geringe Spur, Aceton 0, Polarimeter — 0,07 %:

Entsprechend dem niederen spezifischen Gewicht wurde die Verdünnung dieses Harns zum Zwecke der Bestimmung des Harnzuckers durch Zeitreaktion nach der Verdünnungstabelle (S. 176/177) im Verhältnis von 20 ccm Harn zu 16 ccm Wasser, d. h. auf das 1,8fache Volumen, vorgenommen. Bei dem so verdünnten und im übrigen wie sonst (s. Ia) vorbereiteten Harn erfolgte die Zeitreaktion in drei Parallelversuchen nach 95, 105 und 95 Sekunden. Der Zuckergehalt des verdünnten Harns betrug also hier laut „Zuckerkurve“ (Taf. I) 0,0071 %, der des ursprünglichen Harns **0,013 %** im Mittel, und die Gesamtzuckerausscheidung an dem betreffenden Tage berechnet sich zu **0,22 g.**

Auch dieser Harn IIIa wurde (nach Ansäuerung mit Eisessig, s. S. 171) durch Vergärung vom vorhandenen Zucker vollständig befreit und sofort sterilisiert, um dann nach Zusatz von genau gewogenen Mengen reinen, bei 100° C. getrockneten Traubenzuckers und entsprechender Vorbereitung (s. oben) zu Zuckerbestimmungsversuchen mittelst Zeitreaktion verwendet zu werden:

IIIb. Vergorener und sterilisierter Harn IIIa mit **0,5 %** Traubenzuckerzusatz: Es ergaben sich bei dem mit Wasser auf das 1,8fache Volumen verdünnten Zuckerharn die Zeitzahlen 8, 8 und 8—9 Sekunden, entsprechend einem Zuckergehalt von (ca.) 0,33 % des verdünnten und (ca.) **0,59 %** des unverdünnten Harns im Mittel von drei Parallelversuchen.

IIIc. Vergorener und sterilisierter Harn IIIa mit **0,1 %** Traubenzuckerzusatz: Hier erfolgte die Zeitreaktion, nach Verdünnung des Harns auf das 1,8fache Volumen, in 28 bzw. 28—29 bzw. 29 Sekunden, was einem Zuckergehalt von 0,0550 % des verdünnten und von **0,099 %** des unverdünnten Harns im Mittel dreier Versuche entspricht.

IIId. Vergorener und sterilisierter Harn IIIa mit **0,02 %** Traubenzucker: Der (wie IIIa, b und c) verdünnte Harn zeigte in drei Parallelversuchen die Zeitzahlen 82, 85 und 74 Sekunden. Hieraus berechnet sich ein mittlerer Zuckergehalt von 0,0115 % für den verdünnten und von **0,021 %** für den unverdünnten Harn.

Der

Verlauf der „Zuckerkurve“ (Taf. I) nach rechts zeigt deutlich, dass die Zeitreaktion an Genauigkeit verliert, wenn man es mit Harnen von höherem Zuckergehalt, wie z. B. in den oben angeführten Versuchsharnen Ib, IIb und IIIb, d. h. mit „ausgesprochenen Zuckerharnen“ (vgl. S. 162), zu tun bekommt, und wenn demzufolge die Reaktionszeiten (für die eventuell verdünnten Harne) unter einer gewissen Sekundenzahl bleiben. Je höher der Zuckergehalt solcher Zuckerharnen — nach der mit ihnen gemäss der Verdünnungstabelle (S. 176/177) vorgenommenen Verdünnung — ist, um so mehr gerät man mit ihnen in ein ungünstig werdendes Messbereich. Eine Differenz von wenigen Sekunden beeinflusst dann schon beim verdünnten Harn das Resultat erheblich, und ein etwaiger Messfehler in der Zeitreaktion vergrössert sich noch um so mehr, je höher das spezifische Gewicht des ursprünglichen Harnes war. Deshalb habe ich in Spalte d der Verdünnungstabelle (S. 176/177) für jedes spezifische Gewicht diejenige Mindestzeit angegeben, die bis zum Reaktionsbeginn bei den Versuchen mit den (eventuell nach Vorschrift verdünnten) Harnen ungefähr noch erreicht werden sollte, sofern man aus der Zeitreaktion einen verlässlichen Schluss auf den Zuckergehalt ziehen will.

Fallen die Reaktionszeiten (wie in obigen Beispielen Ib, IIb und IIIb) kürzer aus als die in der Verdünnungstabelle verzeichneten Mindestzeiten, so kann man entweder mit den (laut Verdünnungstabelle verdünnten und von Erdphosphaten befreiten) Harnen durch weitere Verdünnung derselben mit (zuckerfreiem) „Verdünnungsharn“¹⁾ im Verhältnis 1 Volumen verdünnter Harn zu 4—9 Volumina „Verdünnungsharn“ wieder in das für die Zeitreaktion günstige Mess-

1) „Verdünnungsharn“ stellt man sich nach der auf S. 171 f. gegebenen Vorschrift her; nur nimmt man — für das jetzt ausschliesslich angewandte modifizierte Zeitreaktionsverfahren (vgl. S. 174 ff.) — einen auf das spezifische Gewicht 1,005 (anstatt 1,0045) verdünnten normalen Harn. Es ist nicht statthaft, einen (gemäss der Vorschrift auf S. 175 ff. eventuell verdünnten und von Erdphosphaten befreiten) Harn, der für die Zeitreaktion noch zuviel Zucker enthält, — anstatt mit „Verdünnungsharn“ — einfach mit Wasser beliebig weiter zu verdünnen, weil in letzterem Fall die Erscheinungen der Zuckerreaktion nicht mehr die in Anm. 1 S. 173 geschilderten bleiben, sondern sich ganz wesentlich ändern. Der Niederschlag fällt dann, wie aus wässrigen Zuckerlösungen, als braunrotes,

bereich rücken, oder man verzichtet lieber bei diesen ausgesprochenen Zuckerharnen auf die Bestimmung mittels Zeitreaktion, namentlich wenn man auch noch Harn mit hohem spezifischem Gewicht vor sich hat, und wählt eines der bisher bei ausgesprochenen Zuckerharnen bewährten Verfahren der Harnzuckerbestimmung (vgl. S. 161 f.).

Für solche Fälle möchte ich in erster Linie die am raschesten durchzuführende

Polarisation¹⁾ mit gutem Apparat und weiter die Zuckerbestimmung mittels Gärung (densimetrische Probe

sich schnell absetzendes Pulver von Kupferoxydul (vgl. auch Lassar-Cohn [Praxis d. Harnanalyse Anm. S. 30 f. Hamburg und Leipzig 1909]) aus, und die „Zuckerkurve“ büsst infolge totaler Veränderung der Reaktionszeiten ihre Gültigkeit ein.

Der Grad der weiteren Verdünnung ist selbstverständlich bei Feststellung des Zuckerwertes eines Untersuchungsharnes mit in Rechnung zu ziehen.

1) Polarisation. Hierzu dient mir ein durch die Firma Aug. Deckert (vgl. Anm. 1 S. 181) von Franz Schmidt & Haensch, Berlin S. 42, Prinzessinnenstrasse 16, geliefertes Halbschattensaccharimeter mit dreiteiligem Lippichschem Polarisator und Traubenzuckerskala von -3 bis $+12\%$, für genaue Ablesung der Drehung bis $\frac{1}{40}\%$.

Die meisten Harnen bedürfen hiefür der vorherigen Entfärbung. Diese mit Tierkohle vorzunehmen, empfiehlt sich durchaus nicht, weil Tierkohle mehr oder weniger, oft aber ganz erhebliche Mengen, Traubenzucker zurückhält. Bei meinen Versuchen hat mir die — höchst einfache — Entfärbung mit essigsaurer Bleiacetatlösung noch immer genügt. Der Bleiniederschlag reißt in einem mit Essigsäure schwach angesäuerten Harn keinen Traubenzucker mit nieder. Ich nehme die Entfärbung wie folgt vor: Es werden in einem Reagenzglas (160×18 mm) 25 ccm Harn, sofern letzterer nicht stark, d. h. höchstens schwach rotgelb, gefärbt ist, mit 2,5 ccm (a) und, wenn er stärker gefärbt ist, mit $2 \times 2,5$ ccm (b) einer essigsäuren, kaltgesättigten Bleiacetatlösung (s. unten) versetzt, geschüttelt und klar filtriert. Das Filtrat ist ausreichend zur Füllung einer 200-mm-Patentbeobachtungsröhre (s. Preisliste über Saccharimeter von Schmidt & Haensch). Wegen der dabei mit den Harnen vorgenommenen Verdünnung ist das Polarimeterresultat im Fall a mit 1,1, im Fall b mit 1,2 zu multiplizieren. Bezüglich eines wegen der linksdrehenden Nichtzuckersubstanzen üblichen Zuschlags zum Polarimeterresultat verweise ich hier ausdrücklich auf das in Anm. 1 S. 163 Gesagte.

Die essigsäure, kaltgesättigte Bleiacetatlösung wird hergestellt durch Auflösen von 400 g neutralen Bleiacetats (Bleizucker) in einer Mischung von 4 ccm Eisessig und 800 ccm Wasser bei gelinder Wärme. Beim Erkalten scheidet sich wieder etwas Bleiacetat am Boden aus. Die darüber stehenbleibende Flüssigkeit wird zur Entfärbung verwendet.

Die zum Abmessen der Bleiacetatlösung gebrauchte 2,5-ccm-Vollpipette bewahre ich in gleicher Weise auf wie die zur Abmessung der Zeitreaktionslösungen dienenden Pipetten (vgl. Anm. 4 S. 172).

— vgl. S. 161f. — oder Bestimmung mit dem Gärungssaccharometer von Lohnstein oder von Wiedmann; vgl. S. 162) oder endlich die Zuckertitration nach Benedict (vgl. S. 162) empfehlen.

Zum Schluss möchte ich noch bemerken, dass es mir nicht ausgeschlossen erscheint, dass bei entsprechender Vorbehandlung des Blutes auch

Blutzuckerbestimmungen mittels Zeitreaktion ausgeführt werden können.

Vielleicht würde hiebei folgender Weg zum Ziel führen:

Man trüfelt eine genau abgemessene Menge Blutes (z. B. 4 ccm) in ein Stöpselglas, das man zuvor mit einem ebenfalls abgemessenen Quantum (z. B. 80 ccm) absoluten Alkohols [vgl. Sahli¹⁾] beschickt hat, schüttelt das Gemisch durch, filtriert den alkoholischen Auszug — unter möglichster Verhütung einer Verflüchtigung des Lösungsmittels — rasch ab und dampft ein bestimmtes Teil-Volumen des Filtrats [z. B. 62,4 ccm, enthaltend den Auszug von 3 ccm Blut²⁾] nach Ansäuerung mit einigen Tropfen Eisessig auf dem Wasserbad zur Trockne ein. Der erkaltete Rückstand wird mit einer abgemessenen Menge (z. B. 30 ccm) eines beliebigen normalen Harns, den man eventuell zuvor mit Wasser auf das spezifische Gewicht 1,005 (vgl. S. 176/177) verdünnt hat, aufgenommen. Dann wird filtriert.

Der auf diese Weise gewonnene, nach Abscheidung der Erdphosphate ohne weiteres zu den Zeitreaktionsversuchen zu verwendende Zuckerharn sollte, wenn man mit den oben beispielsweise angeführten Flüssigkeitsmengen gearbeitet hätte, auf 30 ccm Flüssigkeit — neben dem Harnzuckergehalt des zur Aufnahme des Verdampfungsrückstandes benützten (verdünnten) Harns — den Blutzucker von 3 ccm Blut enthalten und könnte zwecks Bestimmung des prozentualen Gesamtzuckergehaltes gemäss der auf S. 19 ff. gegebenen Vorschrift der Zeitreaktion unterworfen werden.

Selbstverständlich wäre von dem sich hiebei ergebenden Zuckerwert der prozentuale Zuckergehalt des benützten (verdünnten) normalen Harns, dessen Zuckerwert in besonderen Zeitreaktionsversuchen festgestellt werden müsste, in Abzug zu bringen. Der verbleibende Rest wäre sodann, da der Blutzucker von 3 ccm Blut nach obigem Vorschlag in 30 ccm (verdünnten) Harn verteilt worden ist, mit 10 zu multiplizieren und die so erhaltene Zahl sollte den prozentualen Zuckergehalt des Blutes darstellen.

1) H. Sahli, Lehrb. d. klin. Untersuchungsmethoden S. 970. Leipzig und Wien 1909.

2) Hiebei ist von der Voraussetzung ausgegangen, dass das Blut (s. J. König, Die menschlichen Nahrungs- und Genussmittel S. 34 f. Berlin 1880) im Mittel etwa 80% Wasser einschl. sonstiger alkohollöslicher Stoffe enthalten dürfte.

Zeitreaktionskurve I.

Wenn 5^{ccm} eines (künstlichen) Zuckersyrns, welcher aus Verdünnungssyrnen² durch Zusatz einer genau bemessenen Menge Traubenzucker hergestellt und so auf einen bekannten Zucker- gehalt gebracht worden ist (vergl. S. 13 ff.), direkt der Zeitreaktion unterworfen werden, so entspricht im Mittel

<u>der</u> <u>Zeitdauer</u> von <u>Sekunden:</u>	<u>ein Zuckergehalt</u> des Verdünnungssyrns von %:	<u>der</u> <u>Zeitdauer</u> von <u>Sekunden:</u>	<u>ein Zuckergehalt</u> des Verdünnungssyrns von %:
260	0,020	33-34	0,050
175	0,021	28-28	0,070
140	0,022	24-25	0,080
126	0,023	21-22	0,090
115	0,024	19	0,10
106	0,025	17	0,11
100	0,026	15	0,12
94-95	0,027	14	0,12
89	0,028	13	0,14
85	0,029	12	0,15
81	0,030	11	0,175
65-66	0,025	10	0,20
55	0,040	9	0,25
47-48	0,045	8	0,30
41-42	0,060	7	0,40
37	0,055	6	0,50

¹⁶ Zeitreaktionskurve I ist nicht zum direkten Ablesen des prozentualen Zuckergehaltes der nach der Vorschrift S. 16 ff. vorbereiteten Syrns zu verwenden (vergl. S. 21 f.).

durch Zusatz
kannten Zucker.
werden, so

Zeitreaktionskurve II. („Zuckerkurve.“)

Wird eine Mischung von 4,5^{ccm} des eventl. auf das spez. Gewicht 1,005 verdünnten
Harns und 0,5^{ccm} einer 0,8%igen Traubenzuckerlösung der Zeitreaktion (vergl. S. 16 ff.)
unterworfen, so entspricht im Mittel

Zuckergehalt

des

Harns

in %:

0,60

0,70

0,80

0,90

1,0

1,1

1,2

1,3

1,4

1,5

1,75

2,0

2,5

3,0

4,0

5,0

der
Zeitdauer

von

Sekunden:

verdünnten Harns

von %:

0,000

0,001

0,002

0,003

0,004

0,005

0,006

0,007

0,008

0,009

0,010

0,011

0,012

0,013

0,014

0,015

0,016

0,017

0,018

0,019

0,020

0,021

0,022

0,023

der
Zeitdauer

von

Sekunden:

verdünnten Harns

von %:

52-53

51

49-50

48-49

47

46

45

43-44

42-43

41-42

40-41

40

39

38-39

37-38

37

36-37

35-36

35

34-35

33-34

33

32-33

32

ein Zucker-
gehalt

des eventl. auf

das spez. Gewicht

von 1,005

verdünnten Harns

von %:

0,004

0,005

0,006

0,007

0,008

0,009

0,010

0,011

0,012

0,013

0,014

0,015

0,016

0,017

0,018

0,019

0,020

0,021

0,022

0,023

0,024

0,025

0,026

0,027

der
Zeitdauer

von

Sekunden:

verdünnten Harns

von %:

31-32

31

30-31

29-30

29-30

27

25

23-24

22-23

21

19-20

18-19

17

16-17

14

13

12-13

12

11

10

9

8-9

7-8

6-7

ein Zucker-
gehalt

des eventl. auf

das spez. Gewicht

von 1,005

verdünnten Harns

von %:

0,046

0,048

0,050

0,0525

0,055

0,060

0,065

0,070

0,075

0,080

0,085

0,090

0,100

0,110

0,120

0,130

0,140

0,150

0,175

0,200

0,250

0,300

0,400

0,500

161 Zeitreaktionskurve II. („Zuckerkurve.“) dient zum direkten Ablesen des prozentualen Zucker-
gehalts der nach der Vorschrift S. 16 ff. vorbereiteten Harns (vergl. S. 22.1)

e II. („Zuckerkurve.“)

nH. auf das spez. Gewicht 1,005 verdünnten
ibenzuckerlösung der Zeitreaktion (vergl. S. 16 ff.)

ein <u>Zuckergehalt</u> des eventl. auf das spez. Gewicht von 1,005 <u>verdünnten Harns</u> von ‰:	der <u>Zeitdauer</u> von <u>Sekunden</u> :	ein <u>Zuckergehalt</u> des eventl. auf das spez. Gewicht von 1,005 <u>verdünnten Harns</u> von ‰:
0,024	31 - 32	0,048
0,025	31	0,049
0,026	30 - 31	0,050
0,027	29 - 30	0,0525
0,028	28 - 29	0,055
0,029	27	0,060
0,030	25	0,065
0,031	23 - 24	0,070
0,032	22 - 23	0,075
0,033	21	0,080
0,034	19 - 20	0,085
0,035	18 - 19	0,090
0,036	17	0,100
0,037	15 - 16	0,110
0,038	14	0,120
0,039	13	0,130
0,040	12 - 13	0,140
0,041	12	0,150
0,042	11	0,175
0,043	10	0,200
0,044	9	0,250
0,045	8 - 9	0,300
0,046	7 - 8	0,400
0,047	6 - 7	0,500

rekten Ablesen des prozentualen Zuckergehalts der nach der

63	0,009	35	0,042	11	0,175
61	0,009	34-35	0,043	10	0,200
59	0,010	33-34	0,044	9	0,250
57-59	0,010	33	0,045	8-9	0,300
55-56	0,012	32-33	0,046	7-8	0,400
54	0,013	32	0,047	6-7	0,500

40: Zeitrestenzkurve II („Zuckerkurve“) dient zum direkten Abllesen des prozentualen Zuckergehalts des nach der Verdauung S. 16 ff. vorliegenden Harns (vergl. S. 22.)!

0,042	11	0,175
0,043	10	0,200
0,044	9	0,250
0,045	8 - 9	0,300
0,046	7 - 8	0,400
0,047	6 - 7	0,500

rekten Ablesen des prozentualen Zuckergehalts der nach der