Ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Harnzuckers.

Von H. Citron in Berlin.

Es gibt wenig Methoden in der klinischen Chemie, an denen so viel herum verändert und verbessert worden ist als an der Fehlingschen Titriermethode des Traubenzuckers. Diese Bemühungen sprechen einerseits dafür, daß es lohnt, soviel Mühe zu verwenden, andererseits, daß diese Bemühungen alle nicht recht zum Ziele geführt haben. Als ich vor etwa fünf Jahren die Methode der Traubenzuckertitrierung nach Lehmann kennen lernte, war mir von vornherein klar, daß in dieser Methode, die allerdings eine sehr weitgehende Modifikation des ursprünglichen Verfahrens darstellt, ein sehr wesentlicher Fortschritt liege. Die jodometrische Methode besteht darin, daß ein abgemessenes Quantum Urin mit einer abgemessenen Menge Fehlingscher Lösung erhitzt, durch ein Asbestfilter filtriert, mit Schwefelsäure und Jodkali versetzt und das fre werdende Jod mit Thiosulfat und Stärke titriert wird. Die Grundidee ist folgende: Der Traubenzucker zersetzt eine seiner Menge proportionale Menge Fehlingscher Lösung. Das ausgeschiedene Kupferoxydul bleibt ungelöst auf dem Filter zurück. Das Filtrat setzt sich auf Zusatz von Schwefelsäure und Jodkali folgendermaßen um: $\text{CuSO}_4 + 2 \text{JK} = \text{CuJ} + \text{J} + \text{K}_2\text{SO}_4$. Somit wird auf jedes Molekül noch vorhandenen Kupfersulfats ein Atom Jod frei, das gemessen wird.

Aus dieser Jodmenge kann man also die Menge des in Lösung befindlichen, durch Differenz die des ausgeschiedenen Kupfers, daraus schließlich unter Benutzung der Allihnschen Tabellen die des Zuckers berechnen. Wesentliche Vorteile des Verfahrens sind der Fortfall der schwierigen Entfärbungsreaktion, an deren Stelle die sehr viel schärfere Jodreaktion tritt. Auch daß nur einmal gekocht zu werden braucht, während bei der ursprünglichen Titrierung nach jedem Zusatz erhitzt werden muß, ist entschieden ein Vorteil. Gewisse Mängel haften auch der jodometrischen Methode in dieser ursprünglichen Gestalt an. Ein solcher ist z. B. das Erfordernis eines gut funktionierenden Asbestfilters, das fast eine Contradictio in adjecto ist, in jedem Falle aber ein nicht unbeträchtliches Maß von Zeit und Geschicklichkeit beansprucht. Wie ich schon in meiner ersten Publikation¹⁾ hervorhob, läßt sich das Asbestfilter dadurch umgehen, daß man in die Spitze eines gewöhnlichen Faltenfilters eine Wenigkeit fein gepulverten Bimsteins schüttet. Man erzielt mit diesem einfachen Hilfsmittel sofort klare Filtrate. Eine zweite Veränderung, die ich wohl gleichfalls als Verbesserung ansprechen durfte, betraf die Einrichtung der Bürette. Diese wurde auf der Vorratsflasche selbst befestigt und

1) Deutsche medizinische Wochenschrift 1904, No. 44.

mit einer automatischen Füllvorrichtung versehen. Ferner wurde die Graduierung so bemessen, daß auf Grund obiger Berechnung der Zuckergehalt des Urins unmittelbar in Prozenten abgelesen werden konnte.

Die Resultate, die ich mit diesem Verfahren bekam, waren im allgemeinen recht befriedigende; das Instrumentarium, dem ich den Namen Jodosaccharometer gab, hat anscheinend in ärztlichen Kreisen eine nicht unerhebliche Verbreitung gefunden. Bei alledem haften auch diesem Verfahren gewisse Mängel an. Am schlechtesten fallen die Resultate aus, wenn der Zuckergehalt des Urins sehr niedrig ist. In diesem Falle nämlich, in dem der größte Teil des Zuckers der Reduktion entgeht und in Lösung bleibt, ist es sehr schwierig, das Filter ganz kupferfrei zu waschen. Da das Auswaschen nicht allzu weit getrieben werden darf, um durch zu starke Verdünnung des Filtrats die Reaktion nicht unscharf zu machen, so erhält man auf diese Weise zu niedrige Kupfer-, demgemäß einer einfachen Ueberlegung zufolge zu hohe Zuckerwerte. Auch aus anderen Gründen war es wünschenswert, den Filtrationsprozeß, der das Verfahren immerhin kompliziert, zu umgehen.

Ich glaube es daher als einen sehr wesentlichen Fortschritt ansehen zu können, daß es mir nunmehr gelungen ist, die Zuckerbestimmung in einem Zuge und in ein und demselben Gefäße, mit völliger Umgehung des Filtrierens, zu Ende zu führen, wodurch das Verfahren an Genauigkeit, Einfachheit und Kürze gewinnt. Ich habe mich nämlich überzeugen können, daß nur das in Lösung befindliche, nicht aber das bereits reduzierte Kupfer an der Freimachung des Jods beteiligt ist. Bedingung scheint nur zu sein, daß beim Ansäuern bereits Jod in der Flüssigkeit vorhanden ist. In diesem Falle bildet sich, wie ich durch zahlreiche Versuche festgestellt habe, nur soviel freies Jod als dem unzersetzten Kupfer entspricht, während das Kupferoxydul quantitativ in Kupferjodür übergeht. Ich habe bei dieser Gelegenheit den ganzen Gang der Analyse nochmals einer gründlichen Durchsicht unterzogen und eine genaue Anleitung dafür ausgearbeitet. Die erforderlichen Reagentien und Gerätschaften¹⁾ werde ich am Schluß noch kurz besprechen. Jetzt will ich nur den Gang der Analyse selbst schildern.

In eine Porzellanschale mit Stiel gießt man 10 ccm der Seignettesalzlösung, mißt im Meßkölbchen 10 ccm der Kupferlösung ab und entleert den größten Teil derselben gleichfalls in die Schale. Darauf mißt man mit der Pipettenspritze 1 ccm Urin genau ab, fügt ihn hinzu und rührt alles gut durch. Ist der ganze Inhalt klar gelöst, so erhitzt man über kleiner Flamme etwa $1\frac{1}{4}$ Minuten lang zum Kochen und stellt dann die Schale in ein Gefäß mit kaltem Wasser. Die Zeit der Abkühlung verwendet man zur Herstellung der Stärkelösung, indem man ein haselnußgroßes Stück derselben in einem halben Reagenzglas Wasser zum Kochen erhitzt und dann gleichfalls kalt stellt. Die Bürette ist mit der Natriumthiosulfatlösung aus der Vorratsflasche zu füllen, was einfach dadurch bewirkt wird, daß man sie auf die Flasche steckt — auf der sie für spätere Analysen übrigens verbleiben kann — und in das Mundstück kräftig hineinbläst. Die Flüssigkeit steigt über den höchsten Strich, der mit 9% bezeichnet ist, und stellt sich, wenn man mit Blase aufhört, auf diesen Strich ein.

Die inzwischen abgekühlte Kupfermischung wird jetzt mit etwa 4 ccm einer 25%igen Schwefelsäure angesäuert. Für den Fall, daß der Zuckergehalt des Urins 9% und darüber betragen sollte, tritt eine milchweiße Färbung ein. Sie zeigt eben an, daß der Zuckergehalt höher ist, als der Kapazität des Apparates entspricht. Der Versuch wäre dann mit der doppelten Menge Fehlingscher Lösung und Multiplikation des Resultates mit 2 zu wiederholen. Abgesehen von diesem Ausnahmefall wird in den meisten Fällen auf Zusatz der Schwefelsäure ein dicker, lehmfarbener Niederschlag auftreten. Ist dies der Fall, so fügt man aus der Bürette soviel auf einmal hinzu, daß das Niveau von 9 auf 8% heruntergeht. Nunmehr setzt man einige Kubikzentimeter der Stärkelösung zu, wodurch die Flüssigkeit tief schwarzblau gefärbt werden muß. Sollte dies nicht der Fall sein, so setzt man noch etwas mehr Schwefelsäure und Stärkelösung hinzu. Mit dem prozentweisen Zusatz der Thiosulfatlösung aus der Bürette fährt man so lange fort, bis die Flüssigkeit ganz milchweiß wird und beim Umrühren auch bleibt. Nun fügt man den Kupferrest aus dem Meßkölbchen zu samt dem Waschwasser. Bleibt die Flüssigkeit weiß, so liest man das Resultat an der Bürette direkt ab. Tritt wieder Blaufärbung ein, so läßt man so lange aus der Bürette, diesmal aber nicht prozentweise, sondern Tropfen für Tropfen zulaufen, bis der Umschlag in Weiß erfolgt. Alsdann wird das Resultat abgelesen.

Das Verfahren bringt in dieser Form eine Reihe von Modifikationen, die an und für sich unbedeutend erscheinen mögen, aber insgesamt dazu beitragen, die Methode einfacher, bequemer und doch genauer zu gestalten. Die genaue Abmessung des Urins ist bei der

geringen in Frage kommenden Menge von 1 ccm von der größten Wichtigkeit. Wer des öfteren Gelegenheit gehabt, Ungeübte in der schwierigen Kunst des Pipettierens zu unterweisen, wird wissen, wie schwer es dem Anfänger fällt, 1 ccm genau abzumessen, ohne die mehr oder minder appetitliche Flüssigkeit zu aspirieren. Das von mir angewandte Instrument besteht aus einer etwa 2 ccm fassenden Spritze, die mit einer auf 1 ccm genau graduerten Pipette verbunden ist. Es ist auf diese Weise möglich, die Abmessung ganz genau vorzunehmen, ohne daß, worauf ich Wert legen möchte, die Spritze selbst mit der abzumessenden Flüssigkeit in Berührung kommt. Ferner kommt hierzu der praktische Vorteil, es statt mit einer schwierig zu justierenden Spritze mit einer sehr leicht genau zu graduierenden Pipette zu tun zu haben. Welche Vorteile darin liegen, daß der ganze Filtrationsprozeß jetzt fortfällt, ist in die Augen springend und schon oben von mir erwähnt. Einen weiteren Vorteil möchte ich in der Anwendung der Restmethode sehen. Das lästige tropfenweise Probieren fällt bis auf den Schlußakt gänzlich fort.

Was nun die Reagentien betrifft, so würde ich im allgemeinen empfehlen, sie fertig zubereitet von einer unbedingt zuverlässigen Firma zu beziehen. In Frage kommen folgende Lösungen: 1. eine Auflösung von 34,639 g reinsten Kupfersulfats in 500 g destilliertem Wasser unter Zusatz von 1 ccm Schwefelsäure. Letzteren Zusatz habe ich zweckmäßig gefunden zur Vermeidung der Bildung von Kupferkarbonat; 2. eine Auflösung von 173 g Seignettesalz, 50 g Natronhydrat und 100 g Jodkalium in 500 ccm Wasser; 3. eine $\frac{1}{4}$ Normalnatriumthiosulfatlösung, die außerdem 0,1%iges arsenigsaures Natrium enthält. Dieser Zusatz ist sehr geeignet, die Haltbarkeit der sonst leicht zersetzlichen Thiosulfatlösung zu erhöhen; 4. die Schwefelsäure wählt man etwa 25%ig; 5. die Stärkelösung bereite ich mir in letzter Zeit nur noch durch Auflösung eines zum Aufkleben von Photographien im Handel befindlichen Präparats (Günther Wagner). Von all diesen Chemikalien dürfte Schwierigkeiten nur die Herstellung der Thiosulfat- und der Kupferlösung bereiten. Erstere beziehe ich selbst in Form der $\frac{1}{4}$ Normallösung fertig aus einer zuverlässigen Fabrik. Die Verdünnung auf $\frac{1}{4}$ normale Stärke sowie der Zusatz von 1 g arsenigsaurem Natron per Liter lassen sich leicht selbst bewirken. Da das Liter der $\frac{1}{4}$ Normallösung sich auf etwa 1,50 M stellt, so ist die $\frac{1}{4}$ Normallösung demgemäß äußerst wohlfeil zu bereiten. Die Fehlingsche Kupferlösung ist ziemlich teuer, der Gebrauch nicht unerheblich. Will man die Ausgabe daran wenden, so beziehe man sie aus einer durchaus zuverlässigen Handlung, aber nur einer solchen.

Was die Selbstherstellung betrifft, so kann ich denjenigen, die eine kleine Mühe nicht scheuen, einen durchaus zuverlässigen Weg angeben, bei dem sich die Herstellungskosten nur auf etwa den fünften Teil wie beim direkten Bezuge belaufen. Erforderlich ist hierzu der Besitz einer $\frac{1}{4}$ Natriumthiosulfatlösung und der mehrfach erwähnten jodometrischen Bürette. Man geht nun so vor, daß man sich ungefähr 40 g chemisch reinen Kupfersulfats in einer Porzellanschale mit destilliertem Wasser unter Erwärmen auflöst, filtriert und auf 500 ccm ausfüllt. Von dieser Menge werden 50 ccm abgemessen und 10 ccm mit einigen Tropfen Schwefelsäure, 2 g Jodkali und etwa 3 ccm Stärkelösung versetzt. Nun läßt man aus der jodometrischen Bürette zunächst den ganzen Inhalt hineinfließen, wodurch die Flüssigkeit noch nicht weißgefärbt werden darf, sondern noch blauschwarz bleiben muß. Nun füllt man abermals bis auf 9% auf und titriert langsam bis zur Weißfärbung aus, genau so, als ob man eine Zuckerbestimmung zu machen hat. Ist der Farbumschlag erfolgt, so liest man das Resultat ab. Ist diese Zahl gleich p gefunden, so folgt einer einfachen Ueberlegung zufolge, daß die noch übrige Kupferlösung, also nach Abnahme der 50 ccm noch 450, mit 50 (9 - p) ccm Wasser zu verdünnen ist, um die erforderliche Stärke zu erhalten. Beispiel: Es wurden etwa 40 g (man kann auch mehr nehmen) Kupfersulfat in 500 ccm Wasser gelöst, 50 ccm abgenommen, 450 zurückbehalten. An Thiosulfatlösung wurde verbraucht erst eine volle Bürette zu 9%, dann von der zweiten Füllung bis zum Strich 7,5%.

Es ist nun folgender Ansatz zu machen: $\frac{450}{450 + X} = \frac{9}{9 + 9 - p}$, mithin ist der erforderliche Zusatz $X = 50 (9 - 7,5) = 75$ cm. Wie ich mich durch zahlreiche Versuche habe überzeugen können, sind die auf diese Weise hergestellten Lösungen den durch Einwaage bereiteten durchaus gleichwertig, nur eben sehr viel bequemer zu bereiten.

Wenn ich auf die Herstellung der Reagentien so großen Wert lege, so geschieht dies in dem Gedanken, daß auf die Zuverlässigkeit derselben hier so gut wie alles ankommt. Ist diese Bedingung erfüllt und werden die gegebenen Vorschriften genau inne gehalten, so liefert die modifizierte jodometrische Zuckerbestimmung auch in der Hand des Ungeübten innerhalb weniger Minuten einwand-

1) Zu beziehen durch Richard Kallmeier & Co. in Berlin.

freie und genaue Resultate. Zu dem gleichen Ergebnis ist, laut gütiger mündlicher Mitteilung, Herr Prof. Jacoby, Vorsteher der chemischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses Moabit, gelangt, der die Freundlichkeit hatte, das Verfahren einer sorgfältigen Prüfung zu unterziehen.

Zusammenfassung. Die jodometrische Zuckerbestimmung zeichnet sich vor der gewöhnlichen Titrierung mit Fehlingscher Lösung durch die sehr scharfe und unverkennbare Endreaktion aus. Die von mir beschriebene Modifikation der jodometrischen Zuckerbestimmung verkürzt und verschärft das Verfahren durch den Fortfall der Filtration und die automatische Regulierung der Abmessungen und Berechnungen.