

Zwei neue Methoden zur quantitativen Zuckerbestimmung.

Von

Dr. med. H. P. T. Oerum in Kopenhagen.

Über diese Frage liegen sehr viele Arbeiten vor, und doch hat die Sache ihre Schwierigkeiten.

Die angewandten Titriermethoden beruhen auf der Reduktion entweder eines Kupfersalzes oder eines Quecksilbersalzes in alkalischer Auflösung.

Die Kupfermethode.

Am verbreitetsten ist die Titrierung mit der Fehling'schen Lösung. So lange das Material Zuckerwasser ist, bereitet sie dem Laboranten keine Schwierigkeit, aber schon beim Zuckerzusatz zum Urin oder bei einem diabetischen Urin verursacht sie Schwierigkeiten. Selbst für den Geübten kann die Methode unbrauchbar sein, wenn es sich um einen diabetischen Urin normaler Konzentration handelt. Unzählige Modifikationen sind daher vorgeschlagen worden, zum Beispiel von Pavy, oder die komplizierteren Methoden, die dem Zuckergehalt entsprechende Menge des niedergeschlagenen Kupferoxyduls zu bestimmen.

Eine Darstellung oder Kritik dieser Methoden beabsichtige ich nicht zu geben, weise aber auf Pflüger's Abhandlung im »Archiv für die gesamte Physiologie Band 69 (1898) hin.

Die einzige Modifikation, die für den klinischen Gebrauch geeignet scheint, ist die jodometrische Zuckertitrierung.

Diese Methode wurde gleichzeitig von 2 Forschern, nämlich K. B. Lehmann¹⁾ und E. Riegler²⁾, angegeben.

Die Methode ist dieselbe, nämlich dass man die Menge Kupfer titriert, die im Filtrate gefunden wird, nachdem das niedergeschlagene Kupferoxydul abfiltriert ist. Man setzt eine abgemessene Menge Jodkalium zu, nachdem man mit Schwefelsäure sauer gemacht hat; hierdurch wird das Jod frei und dies wird mit Natriumthiosulfat titriert. Stärkekleister wird als Indikator angewendet. 1 Atom Jod entspricht 1 Atom Kupfer.

¹⁾ K. B. Lehmann: Eine einfache jodometrische Zuckerbestimmung. Archiv f. Physiologie 30, 267 (1897).

²⁾ Ein neues titrimetrisches Verfahren zur Bestimmung des Traubenzuckers, des Milchezuckers sowie auch anderer Fehling'sche Lösung reduzierender Körper. Diese Zeitschrift 37, 22 (1898).

Diese Methode kann ein wenig umständlich scheinen, kann aber ganz leicht ausgeführt werden. Ein Nachteil ist es jedoch, dass Natriumthiosulfat so wenig beständig ist, weshalb die Lösung vor jeder Anwendung kontrolliert werden muss.

Diese Methode habe ich in mehreren Fällen benutzt und bin damit zufrieden gewesen, in manchen Fällen ist sie wegen des Filtrierens fehlgeschlagen.

Lehmann hat als Kontrolle empfohlen, das Kupferoxydul in Salpetersäure aufzulösen und das Kupfer maßanalytisch zu bestimmen. Hierbei muss Harnstoff zugesetzt werden, da sonst Jod in Freiheit gesetzt würde.

Ein anderes Verfahren, den Zucker zu bestimmen, aber nicht maßanalytisch, ist das kolorimetrische, und Sahli¹⁾ hat dann auch die Initiative zur Einführung eines solchen ergriffen.

Er stellte erst viele vergebliche Versuche an. Es zeigte sich, dass es unmöglich ist, die Eigenschaft des Zuckers, das Kupferhydroxyd in Auflösung zu halten, zu benutzen.

Es gab dann folgende Möglichkeiten: entweder das unreduzierte Kupfer zu bestimmen oder das reduzierte Kupferoxydul aufzulösen und dieses kolorimetrisch zu bestimmen.

Die erste Methode zeigte sich ganz unbrauchbar, da die Farbenintensität der Fehling'schen Lösung nicht der Kupfermenge proportional ist.

Sahli schlug daher die zweite Methode zu approximativer Bestimmung vor und gebrauchte das folgende Verfahren:

Nach Reduktion nach Soxhlet-Allihn wird das reduzierte Kupferoxydul durch ein Asbestfilter abfiltriert, worauf es auf dem Filter in Salpetersäure aufgelöst wird, und das Kupfer wird dann kolorimetrisch durch Vergleich mit einer Kupferlösung von bekanntem Gehalt bestimmt. Es zeigte sich später, dass es nicht für den Vergleich notwendig war, eine Auflösung von Kupfernitrat anzuwenden, da eine Lösung von Kupfersulfat mit demselben Kupfergehalt dieselbe Farbe hat. Die Farbe hängt nämlich nur von den Kupferionen ab, die in beiden Lösungen in derselben Menge wegen der gleich grossen Dissoziation vorhanden sind.

In zwei gleiche grosse Maßgefäße wird einerseits die Lösung des reduzierten Kupfers, andererseits ein gleich grosses Volumen von Fehling-

¹⁾ Lehrbuch der klinischen Untersuchungsmethoden. Dritte Auflage 1902, S. 524.

scher Kupferlösung gegossen. Zu dieser Lösung wird nun so viel Wasser zugesetzt, bis die Farbe in den zwei Maßgefäßen dieselbe ist. Die Kupfermengen verhalten sich dann zu einander, wie der Rauminhalt der zwei Flüssigkeiten, und die Zuckermenge wird leicht gefunden, da man weiß, wieviel Zucker 1 cc der Fehling'schen Kupferlösung reduziert.

Auf diese Weise war es nur möglich, eine einzige Bestimmung zu machen, weshalb die Methode nur approximativ ist. Überall, wo es sich darum handelt, Farben, Lichtstärke u. s. w. zu beurteilen, muss man mehrere Bestimmungen unternehmen und die Durchschnittszahl ausrechnen.

Da die wissenschaftlich-klinische Methode nun in Meisling's Universalkolorimeter einen Apparat erhalten hat, der kaum von einem anderen Apparate zu exakt kolorimetrischer Bestimmung übertroffen werden kann, hielt ich den Zeitpunkt für gekommen, eine exakte kolorimetrische Zuckerbestimmungsmethode auszuarbeiten.

Die Methode hat sich den andern exakten Methoden ebenbürtig erwiesen und ist ihnen in der leichten Ausführung überlegen.

A priori könnte man Bedenken tragen, eine kolorimetrische Bestimmung zu benutzen, um exakte Resultate zu erlangen, da die Dissoziation ein Faktor ist, der in Betracht gezogen werden muss und daher der Methode einen Spielraum innerhalb recht enger Grenzen lässt.

Die bläulichen Farbentöne sind zu kolorimetrischer Bestimmung sehr geeignet, da das Unterscheidungsvermögen des Auges für Blau am feinsten ist.

Bei der Beschreibung meiner Untersuchungen werde ich der Ordnung, in der die Versuche unternommen wurden, folgen, da dies gleichzeitig einen Begriff von der Anwendung der Methode zu approximativer Bestimmung gibt.

Das Meisling'sche Kolorimeter ist der Gegenstand einer ausführlichen Abhandlung in dieser Zeitschrift ¹⁾ gewesen. Zu den Versuchen wurde der Ebonitunterteil benutzt, da man mit säurehaltigen Lösungen arbeiten muss.

Alle Bestimmungen sind bei künstlichem Lichte, nämlich bei einer gut leuchtenden Petroleumlampe ausgeführt worden. Am Tage wurde das Zimmer durch einen schwarzen Vorhang dunkel gemacht.

¹⁾ Diese Zeitschrift **43**, 137.

Die erste Aufgabe bestand darin, eine passende Probefarbe zu finden, was sich als leicht erwies. Auch die Lösung, mit welcher die Kalibrierung vorgenommen werden sollte, war leicht herzustellen, da man hierzu die Fehling'sche Kupferlösung benutzen konnte (34,65 g wasserfreies Kupfersulfat in 500 cc Wasser).¹⁾

In meinem Apparate fand ich, dass 47° einer Schichtdicke von etwa 6 mm entsprachen.

Da die Einteilung der Apparate in Grade verschieden ist, muss der Apparat immer kalibriert werden, was dadurch geschieht, dass man die Fehling'sche Kupferlösung in die Zelle giesst, auf die Schichtdicke 6 einstellt und durch Schwingen der Nicol'schen Prismen 10 Einstellungen macht. Die Durchschnittszahl gibt dann die Probefarbe auf dem Zirkelnonius an.

Hat man einmal seinen Apparat genau für eine Probefarbe eingestellt, so kann man sie als Nullpunkt benutzen und auf andere Probefarben einstellen, wenn die Differenz in Graden bekannt ist.

Es ist leicht einzusehen, dass die Grenze der Zuckerbestimmung mit der höchsten erreichbaren Schichtdicke gegeben sein muss, welche etwa 24 ist, oder mit anderen Worten, sofern die Schichtdicke 6 1 % Zucker entspricht, wird die kleinste Zuckermenge, die bestimmt werden kann, etwa $\frac{1}{4}$ % sein.

Bei einer Schichtdicke von zirka 20 wird die Dissoziation Schwierigkeiten machen, wie die folgenden Versuche zeigen:

Bei 30 Ablesungen wurde eine Kupferlösung zur Schichtdicke 6,81 bestimmt. Diese Lösung wird mit gleichen Teilen Wasser verdünnt und gibt dann 13,60 (10 Ablesungen), aber eine Verdünnung mit 2 Teilen Wasser gab 20,66 (10 Ablesungen). Die Abweichung war in diesem Falle + 0,23.

Teils um die Dissoziation zu vermeiden, teils um kleinere Zuckermengen bestimmen zu können, wurde zugleich für eine Kupferlösung mit dem halben Kupfergehalt mit einer anderen Farbennuance kalibriert.

Um Verdünnungsfehler auszuschliessen, nimmt man von der Kupferlösung und dem destillierten Wasser je 250 cc.

¹⁾ Flaschen mit Kupferlösung von dieser Konzentration sind gewöhnlich im Handel bezeichnet: 10 cc Fehling'sche Lösung werden von 0,05 g Traubenzucker reduziert.

Zu diesem Zwecke passt eine Schichtdicke von 9 am besten, indem sie Bewegungen nach beiden Seiten gestattet.

In meinem Apparate passte eine Probefarbe 53⁰ 4 am besten. Die Probefarbe für die halbe Kupfermenge findet man ganz einfach, indem man 6⁰ 4 Noniusgrade zur Probefarbe der unverdünnten Kupferlösung addiert.

Bei 10 Reihen von 10 Ablesungen wurde die Schichtdicke für die Fehling'sche Kupferlösung zu 6,03 und für die halbe Kupfermenge bei 15 Reihen von 10 Ablesungen zu 8,83 bestimmt. Die Zahlen werden dann 6, beziehungsweise 8,8, da die Ablesung nur mit $\frac{1}{10}$ mm Genauigkeit vorgenommen werden kann.

Bei der Anwendung dieser zwei Probefarben kann man immer mit den kleineren Schichtdicken arbeiten, indem man zugleich eine Kontrolle hat, da die gefundenen Schichtdicken sich wie 12 zu 8,8 verhalten sollen.

Die ersten Analysen, die ich unternahm, wurden so ausgeführt:

10 cc Fehling'sche Lösung wurden mit gleichen Teilen Wasser verdünnt und nach beginnendem Kochen 5 cc einer Zuckerlösung mit weniger als 1 $\frac{0}{0}$, deren Gehalt durch Polarisation und Gärung bestimmt wurde, zugesetzt.

Nach einem Kochen von 2 Minuten wurde alles Kupferoxydul durch Asbest vermittels Saugens abfiltriert. Nach dem Auswaschen wurde Salpetersäure aufgegossen, die das Kupferoxydul auflöste, und die Lösung nebst dem Waschwasser nun durch den Asbest in ein genau eingeteiltes Messgefäß gezogen.

Danach wird Wasser bis zu 10 cc aufgegossen. Diese Lösung wird nun kolorimetrisch bestimmt, und die gefundene Schichtdicke, in 12 bei 47⁰ und 8,8 bei 53⁰ 4 dividiert, gibt den Zuckergehalt in Prozenten.

Im ganzen unternahm ich nach dieser Methode die folgenden 5 Analysen:

	Berechnet	Probefarbe	Gefunden
Analyse I . .	0,78 $\frac{0}{0}$	47 ⁰	0,80 $\frac{0}{0}$
		53 ⁰ 4	0,75 <
Analyse II . .	0,78 <	53 ⁰ 4	0,79 <
Analyse III . .	0,78 <	53 ⁰ 4	0,82 <
Analyse IV ¹⁾ .	0,31 <	53 ⁰ 4	0,35 <
Analyse V . .	0,62 <	53 ⁰ 4	0,66 <

¹⁾ Zu dieser Lösung wurde die doppelte Portion Zuckerlösung, nämlich 10 cc angewendet.

Als ein Beispiel führe ich an:

Analyse II . . .	11,3
	10,5
	11,5
	11,9
	11,3
	11,6
	10,7
	11,3
	11,2
	10,6
	<hr/>
	11,19

$$\text{Ausrechnung: } \frac{8,8}{11,19} = 0,786$$

Diese Analysen zeigen, dass die Methode brauchbar ist. Die gefundenen Zahlen sind mit einer einzigen Ausnahme ein wenig zu hoch. Diese einfache Methode gibt aber für praktische Zwecke vollständig brauchbare Resultate.

Der Grund der zu hohen Zahlen kann nun in zwei Umständen gesucht werden, nämlich teils darin, dass der Asbest etwas Kupfersulfat zurückhält, teils darin, dass Kupfermenge und Zuckermenge nicht proportional sind.

Der erste Fehler ist schwierig zu vermeiden, dagegen kann der zweite Fehler bei der Anwendung von Tabellen, in denen man die der Kupfermenge entsprechende Zuckermenge finden kann, bedeutend reduziert werden. Eine solche Tabelle hat Allihn¹⁾ berechnet.

Benutzen wir diese Tabelle, so gibt die Analyse die folgenden Resultate:

Analyse I	0,78 ‰	0,77 ‰
		0,72 ‰
Analyse II . . .	0,78 ‰	0,75 ‰
Analyse III . . .	0,78 ‰	0,76 ‰
Analyse IV . . .	0,31 ‰	0,335 ‰
Analyse V . . .	0,62 ‰	0,63 ‰.

Die Übereinstimmung zwischen den Zahlen zeigt sich also besser nach Berechnung des den Kupfermengen entsprechenden Zuckergehaltes

¹⁾ Journ. f. prakt. Chemie **130**, oder [N. F.] **22**, 63; diese Zeitschr. **22**, 449; oder im Auszug Sahli's zitiertes Lehrbuch S. 524.

in Prozenten. Ein noch besseres Resultat wäre sicher zu erzielen durch die Anwendung von grösseren Kupfermengen.

Das Verfahren in den folgenden Versuchen ist dies:

60 cc Fehling'sche Lösung werden mit 60 cc Wasser verdünnt, worauf die Lösung in einem Kolben auf einem Asbestnetze zum Kochen gebracht wird. Nun werden 25 cc Zuckerlösung, die höchstens 1 % Zucker enthalten darf, zugesetzt, und dann wird das Kochen 2 Minuten fortgesetzt.

Zum Filtrieren wird am besten ein Asbestfilter angewendet. In den engen Teil eines Asbesttrichters wird langfaseriger Asbest gebracht und auf denselben eine Asbestemulsion.

Wenn das Kupferoxydul durch den Asbest geht, kann man denselben leicht mit einem Glasstab festdrücken. Der Asbesttrichter wird dann in dem durchlochten Stopfen einer Saugflasche befestigt.

Wenn man keine Saugpumpe besitzt, kann man sehr gut das Saugen entbehren, wenn man das Filter in einen gewöhnlichen Trichter bringt. In den Hals wird ein kleines Stück Glaswolle gebracht, und über dieselbe wird die Asbestemulsion gegossen; der Asbest wird, wenn das Wasser abgelaufen ist, mit einem Glasstabe leicht angedrückt.

Es fordert ein wenig Übung, ein gutes Asbestfilter zu machen, es wird aber verhältnissmässig schnell gelernt. Die Anwendung von Filtrierpapier ist nicht ratsam.

Das ausgeschiedene Kupferoxydul wird durch den Asbest abfiltriert. Die Lösung wird so aufgegossen, dass das Filter nie trocken wird, und man wäscht mit zirka 100 cc Wasser aus.

Das Kupferoxydul soll nun in Salpetersäure aufgelöst werden, was am besten geschieht, indem man dieselbe erst in den Kolben, um etwa zurückbleibende Spuren von Kupferoxydul aufzulösen, und von dort auf das Filter giesst. Ich gebrauche zuerst wenig 25-prozentige und dann 10-prozentige Salpetersäure. Danach wird mit Wasser gewaschen. Beim Filtrieren wurde ein sehr fein eingeteiltes Messgefäss benutzt.

Der Vorteil bei der Anwendung von grossen Kupfermengen ist, dass man es in der Hand hat, die Lösungen aus freier Wahl konzentrieren und verdünnen zu können, was dazu beiträgt, den Dissoziationsfehler auszuschliessen. Kleine Kupfermengen erfordern natürlich kleinere Mengen Lösungsmittel. Praktisch ist es genügend, Verdünnungen von $7\frac{1}{2}$, 15 und 30 cc, entsprechend einem Zuckergehalt unter $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$ und 1 % anzuwenden.

Hierdurch erreicht man zugleich, dass man zu noch niedrigeren Zuckerprozenten gelangen kann, indem die Schichtdicke 6 bei der Konzentration $7\frac{1}{2}$ 0,25 % entspricht. Benutzen wir nun die Probefarbe 53° 4, so können wir bis zu 0,06 % bestimmen, welche Menge dem physiologischen Gehalt reduzierender Substanz in normalem Urin entspricht.

Die Verwendung von zwei Probefarben gestattet ausserdem in einer grossen Anzahl von Fällen eine Doppelbestimmung.

Die Kupfermenge wird berechnet, indem die Schichtdicke in die Konstante 279189 dividiert wird. (Die Kupfermenge in 30 cc Fehling'scher Kupferlösung beträgt $463 \text{ mg} \times 6,03$.)

Die Zuckermenge in 25 cc Lösung findet man direkt in Allihn's Tabelle und die Prozente Zucker durch Multiplikation mit 4.

Ich führe die Resultate von 6 Analysen an:

	Berechnet	Cu mg	cc	Gefunden
Analyse I ¹⁾ . .	0,4212	207	30	0,4252
« II . . .	0,8717	410,5	30	0,8760
« III . . .	0,583	278,5	30	0,5770
« IV . . .	0,817	389	30	0,8260
« V . . .	0,365	182	15	0,3724
« VI . . .	0,073	40	7,5	0,083

	Analyse I	Analyse III
Beispiele: 47°	53° 4	
13,2	7,3	
13,5	7,4	
13,3	7,1	
13,5	7,6	
13,9	7,4	
14,4	6,8	
13,9	7,8	
12,8	6,9	
13,5	7,4	
12,8	7,4	
<hr/>	<hr/>	
13,48	7,31	

1) Die 3 ersten Analysen sind mit abgewogenen Substanzmengen, die übrigen 3 mit Flüssigkeiten ausgeführt, welche durch Verdünnung bekannter Lösungen hergestellt waren.

Harn	Polarisation	Lohnstein's Saccharimeter	Lohnstein's Urometer	Kolorimeter	Verdünnung	Schichtdicke	Cu mg	Zucker in 100 cc g
1	3,4	3,8	3,9	4,09	6	8,58	325	0,68
2	3,3	3,1	3,32	3,27	6	10,60	263	0,55
3	3,3	3,5	3,28	3,28	4	7,22	205	0,82
4	2,5	2,65	1)	2,76	6	12,44	115,6	0,46

Die Quecksilbermethode.

Beim Titrieren mit Kupfersalzen können, wie schon erwähnt, Schwierigkeiten bei dem Filtrieren entstehen, und es kann ganz misslingen.

Ausserdem kann leicht beim Filtrieren eine Oxydation des Oxyduls zu Oxyd stattfinden, und das kleinste Missgeschick bei dem Filtrieren vergrössert diese Gefahr.

Will man Analysen auf malsanalytischem Weg durchführen, so ist man in vielen Fällen geradezu auf die Knapp'sche Titriermethode²⁾ angewiesen.

Worm-Müller³⁾ und Otto loben die Methode, was sie auch sicher verdient, heben aber stark hervor, dass die Zuverlässigkeit derselben von einem bestimmten Verfahren abhängt. Bei zu schnellem Zusatze von Urin kann 1 cc bloss 2 mg Zucker entsprechen. Die Verdünnung des Urins wirkt auch stark ein.

In den Handbüchern ist die Beurteilung sehr verschieden. Hoppe-Seyler kritisiert sie stark, während Hammarsten sich dem Urteil Worm-Müller's über die Methode anschliesst.

Als Vorteile der Methode sind hervorzuheben, dass die Lösung dauerhaft ist, und dass keine Gefahr einer Oxydation besteht. Ausserdem kann sie bei kleinen Zuckermengen gebraucht werden und auch bei Urin, dessen Gehalt an festen Bestandteilen sonst normal ist. Sie kann auch bei künstlicher Beleuchtung ausgeführt werden.

Sie fordert keine schnelle Ausführung wie die Fehling'sche Methode. Zwar hat Worm-Müller⁴⁾ später gezeigt, dass das Quecksilber

1) Die Analyse ging verloren.

2) Liebig's Annalen der Chemie **154**, 252; diese Zeitschrift **9**, 395.

3) Worm-Müller und J. Hagen, Pflüger's Archiv **16**, 69 (1878) und **23**, 220 (1880); diese Zeitschrift **20**, 574.

4) Journ. f. prakt. Chemie **26**, 85 (1882).

nach und nach wieder aufgelöst werden kann, dies nimmt aber Stunden in Anspruch, und innerhalb der ersten Stunde ist keine Gefahr vorhanden.

Etwa zur gleichen Zeit, als Worm-Müller die Bedingungen der praktischen Anwendung von Knapp's Methode untersuchte, liess Sachsse¹⁾ seine Schüler diese Methode prüfen, verwendete aber als Indikator Zinnchlorür mit zugesetztem Alkali. Mit diesem Indikator kann 0,1 cc Zusatz deutlich erkannt werden.

Bei verschiedenen Versuchen war das Resultat sehr verschieden, je nachdem man 5 cc, 1 cc oder 0,1 cc auf einmal zusetzte.

Sachsse verwarf daher die Methode und schlug eine andere Lösung vor, nämlich eine Quecksilber-Jodkaliumlösung.

18 g reines und trockenes Jodquecksilber²⁾,

25 g Jodkalium,

80 g Ätzkali

zu 1000 cc Wasser.³⁾

100 cc von dieser Flüssigkeit entsprechen 0,33 g Traubenzucker in 1-prozentiger Lösung (Soxhlet⁴⁾).

von Mering⁵⁾ lobt Sachsse's Methode. Worm-Müller erwähnt die Methode in einer Anmerkung, da sie ihm erst nach dem Abschlusse seiner Untersuchungen bekannt wurde.

Die Quecksilbermethode ist die einzig anwendbare Methode, wenn man die anderen nicht gärunsfähigen, reduzierenden Stoffe bestimmen will. Man titriert dann vor und nach der Gärung.

Die von mir angestellten Versuche bestätigen vollständig die Anschauung früherer Forscher, dass die Resultate je nach dem Verfahren in höchstem Grade verschieden sind; richtet man sich aber völlig nach der Vorschrift Worm-Müller's, so gibt die Methode gute Resultate und ist leicht auszuführen.

1) Sachsse: Die Chemie und Physiologie der Farbstoffe, Kohlenhydrate und Proteinsubstanzen. Leipzig 1877.

2) 10,7444 g reines Quecksilberchlorid und die notwendige Menge Jodkalium.

3) Wenn man vorzieht, dass 10 cc 0,05 g Zucker entsprechen, wird die Zusammensetzung:
27,5 g Jodquecksilber,
38 g Jodkalium,
15,15 g Ätzkali.

4) in 0,5-prozentiger Auflösung = 0,325 g Traubenzucker.

5) v. Mering: Über die Abzugswege des Zuckers aus der Darmhöhle. Du Bois Reymond's Archiv f. Physiologie 1877, S. 379.

Ich habe immer eine Probetitrierung, 10 cc Lösung mit 40 cc Wasser verdünnt, unternommen, um zu sehen, ob die Verdünnung passend wäre, und um mir ein vorläufiges Urteil darüber zu bilden.

Was die endgültige Reaktion betrifft, ist die Anwendung von Schwefelwasserstoff recht unangenehm. Ausserdem scheint die gelbe Farbe mir nicht beweisend zu sein, indem die Lösung beim Kochen der Cyankaliummischung selbst eine gelbe Färbung annehmen, und ein stark konzentrierter Urin in Verbindung mit Moore's Reaktion der Lösung eine Farbe geben kann.

Aus diesen Gründen habe ich mich nach Sachsse gerichtet und Zinnchlorür (das in verschlossenem Glase sehr haltbar ist) mit Natronlauge im Überschuss zugesetzt. Dieses Verfahren scheint mir ebenso gute Resultate als Schwefelwasserstoff zu liefern. Mittels eines Glasstabes habe ich von der Oberfläche einen Tropfen genommen direkt nach Beendigung des Kochens.

Etwas anhängendes Quecksilber würde gleich auf Porzellan wahrgenommen werden.

Die Knapp'sche Lösung hat zugleich die Eigenschaft, vor der endgültigen Reaktion klar zu werden.

Das Titrieren mit der Sachsse'schen Lösung bietet keinen anderen Vorteil dar, als dass das Resultat nicht durch das Tempo des Zusatzes beeinflusst wird. Es nimmt ein wenig längere Zeit in Anspruch, da $\frac{1}{3}$ Urin mehr zugesetzt werden soll, und es kommt mir vor, dass das Quecksilber sich ein wenig langsamer absetzt, was die Herbeiführung der endgültigen Reaktion ein wenig schwieriger macht.

Das Titrieren selbst nimmt immer ein wenig Zeit in Anspruch, und der Gedanke lag sehr nahe, ob es nicht möglich wäre, diese Methode so umzubilden, dass die Menge des Quecksilbers, das aus der Lösung ausgeschieden wurde, bestimmt wird.

Dass die Knapp'sche Lösung nicht dazu geeignet war, versteht sich von selbst. Man könnte denken, dass sukzessiver Zusatz von 1 cc oder 0,5 cc auf einmal ein befriedigendes Resultat ergebe; direkte Versuche bestätigten es aber nicht. Dagegen schien die Sachsse'sche Lösung diese Art der Anwendung zur Bedingung zu machen, und ich habe daher das folgende Verfahren angewandt:

20 cc der Sachsse'schen Lösung werden in einem $\frac{1}{2}$ Literkolben mit 80 cc Wasser versetzt, worauf gekocht wird. Nun werden 5 cc Urin zugesetzt, der so verdünnt ist, dass er weniger als 1,3 $\frac{0}{10}$ enthält; das

Kochen dauert ein paar Minuten fort. Versuche haben gezeigt, dass die Reduktion fast gleich stattfindet, dass aber längeres Kochen die Filtration bedeutend erleichtert. Während die Lösung noch siedend heiss ist, filtriert man durch ein gutes Filter¹⁾. Beim Aufgiessen achte man sehr genau darauf, dass die Lösung das Filter nicht ganz füllt, da das Quecksilber Neigung hat, am Rand emporzusteigen. Darauf wäscht man mit einprozentiger, warmer Salzsäure aus. Dieses Auswaschen geschieht um die Phosphate und etwa zurückbleibendes Quecksilberjodid zu entfernen. Die warme Salzsäure bewirkt auch, dass das Quecksilber sich in der Spitze des Filters zu Kugeln sammelt. Darauf wird mit warmem Wasser mittels einer Spritzflasche ausgewaschen, um den Rest von Jodkalium und Salzsäure zu entfernen. Man achte genau darauf, dass die oberen Teile des Filters ausgewaschen werden. Mit diesem Auswaschen wird bis zum Verschwinden der Chlorreaktion fortgefahren. Es erfordert eine erstaunlich kurze Zeit.

Es bleibt nun noch übrig, die Menge des Quecksilbers zu bestimmen. Diese Bestimmung lässt sich nun sehr schnell ausführen mittels der Volhard'schen Titriermethode.²⁾

Diese Methode eignet sich dann nicht, wenn die grösste Genauigkeit erforderlich ist, aber wegen der sehr leichten Ausführung derselben, selbst in ungeübten Händen, und wegen der konstanten Resultate ist man völlig berechtigt, sie für den klinischen Gebrauch einzuführen.

Die Titrierung ist also Volhard's Chlortitrierung in saurer Lösung analog. Die durch Eisenrhodanid blutrote Auflösung wird eben so schnell entfärbt als eine Silberlösung, mit dem Unterschied jedoch, dass ein kleiner Überschuss der Quecksilberlösung und nicht völlig äquivalente Mengen wie bei der Silberlösung gebraucht werden.

Das Quecksilberrhodanid wird von Eisenoxydsalzen teilweise gespalten. Eine Auflösung von einem Eisenoxydsalz gibt mit vollkommen reinem Quecksilberrhodanid eine schwach rötliche Farbe, die durch Zusatz von Salpetersäure stärker wird. Man bekommt daher eine bleibende hellbräunliche Farbe der Lösung etwas früher als die notwendige Rhodanmenge zugesetzt ist. In der Flüssigkeit findet sich noch etwas salpetersaures Quecksilber, und es herrscht ein Gleichgewichtszustand.

¹⁾ Ich habe Filter von Schleicher und Schüll benutzt (blaues Band).

²⁾ Volhard: Die Anwendung des Schwefelcyanammoniums in der Mafs-analyse; Liebig's Annalen der Chemie **190**, 57 (1878); diese Zeitschr. **18**, 271.

Die Farbe hält sich, bis die Rhodanlösung im Überschuss zugesetzt wird. Der Übergang findet nach und nach statt, und nur das erste Erscheinen der Farbe lässt sich genau beobachten.

Eine sehr geringe Menge Quecksilber bleibt als Salz zurück und diese variiert mit der Verdünnung, der Säuremenge und der Rhodanlösung, die zugesetzt ist.

Es handelt sich also darum, das Quecksilber in salpetersaures Quecksilberoxyd umzuwandeln.

Dies geschieht am besten, indem man reine Salpetersäure, welche frei von jeder Spur salpetriger Säure ist, in einem Reagensglas kocht und immer eine bestimmte Menge, zum Beispiel 10 cc, auf das Filter schüttet, wodurch das Quecksilber aufgelöst wird. Der Trichter wird auf den Kolben, in dem die Reduktion stattfand, gesetzt, zuletzt wird das Filter in den Kolben gebracht, und man kocht aufs neue. Der Rest des Quecksilbers, der auf dem Filter und im Kolben zurückgeblieben ist, wird so gewonnen. Es ist für die Behandlung mit Salpetersäure von Wichtigkeit, dass alles Jodkalium entfernt ist, da sonst Quecksilberjodid gebildet werden könnte, das in einer sauren Auflösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd löslich ist.

Die Farbe des Eisenrhodanids wird durch salpetrige Säure bei gewöhnlicher Temperatur und durch warme Salpetersäure zerstört. Dem entgeht man sehr leicht, indem man die Flüssigkeit durch Zusatz von 250—300 cc destillierten Wassers abkühlt.

Nun wird der Indikator zugesetzt. Hierzu kann man ein chlorfreies Eisenoxysalz anwenden, also schwefelsaures Eisenoxyd oder Eisenammoniakalaun. Anfangs benutzte ich das erste, es zeigte sich dann aber bei einem Versuch, dass beim Zusatze Quecksilber ausfiel, da es Eisenoxyd enthielt. Später habe ich immer Eisenammoniakalaun angewendet und 1 cc einer gesättigten Lösung zugesetzt. Man erinnert sich, dass auch das Eisenoxysalz auf die Reaktion einwirkt.

Vor der Titrierung kann man die Menge der freien Säure mit chlorfreier Soda abstumpfen, diesen Punkt halte ich aber für weniger wichtig, wenn die Flüssigkeit bis zu 250 cc verdünnt ist.

Als Rhodansalz kann man Rhodankalium oder Rhodanammonium benutzen, ich habe immer das letzte gebraucht, da es chlorfrei und nach Volhard beständig ist. Man gebraucht $\frac{n}{10}$ -Rhodanammonium, also eine Lösung von 7,6 g auf 1 l.

Die Rhodanlösung wird die ganze Zeit hindurch gleichmäÙig zugesetzt, bis die Lösung einen hellbräunlichen Farbenton angenommen hat. Dies lässt sich sehr leicht sehen, selbst bei künstlichem Lichte.

Die Berechnung der Zuckermenge ist sehr leicht.

20 cc Lösung enthalten 0,36 g Quecksilberjodid, entsprechend 0,1588 Quecksilber. 1 Atom Quecksilber entspricht 2 Molekülen Rhodan-ammonium, weshalb 12,04 oder 12 cc $\frac{n}{10}$ Rhodan-ammonium zu der Menge Quecksilber, die in 20 cc Flüssigkeit gefunden wird, zugesetzt werden sollen.

Die Berechnung der Zuckermenge gestaltet sich, wie folgt:

$$\frac{a \cdot 20 \cdot 0,066}{12} = a \cdot 0,11.$$

a bedeutet die angewendete Zahl Kubikzentimeter. Man multipliziert mit 20, da nur 5 cc Urin angewendet wurden. 0,066 ist die Menge Traubenzucker, die der vollständigen Reduktion der Lösung entspricht. Findet sich gerade 1 $\frac{o}{o}$ Zucker, so soll man 9,1 cc Rhodan-ammonium zusetzen. Die vollständige Reduktion entspricht 1,32 $\frac{o}{o}$ Zucker.

Ist der Urin verdünnt, so wird die gefundene Zahl mit dem Verdünnungsgrade multipliziert.

Nun kann man nie annehmen, dass die Lösung völlig korrekt und das Jodquecksilber vollständig trocken und rein ist, dasselbe gilt übrigens auch vom Cyanquecksilber, und eine Kontrolle der Lösung ist daher notwendig. Ebenso ist das Rhodan-ammonium auch nicht ganz genau, weshalb eine Kontrolle ebenfalls absolut notwendig ist. Zu 20 cc Lösung setzt man mindestens 5 cc einer 1 $\frac{1}{2}$ prozentigen Traubenzuckerlösung zu. Sonst folgt man dem oben beschriebenen Verfahren und verwendet die gefundenen Zahlen im Nenner des Berechnungsbruches. Dies hat den Vorteil, dass die Kontrollmethode auf dieselbe Weise ausgeführt wird, indem man dann nicht mit den theoretischen Zahlen als normal rechnet, wodurch ein möglicher Fehler in den Lösungen eliminiert wird. Was die Haltbarkeit der Lösungen betrifft, möchte ich nur bemerken, dass ich sie immer in kleineren Portionen zubereitet und sie in dunkler Flasche aufbewahrt habe. So haben sie sich gut gehalten. Selbst 2 Monate aufbewahrte Lösung gab gute Resultate. Ein Übelstand ist, dass der Preis ein wenig höher als der der Knapp'schen Lösung ist.

Versuche.

I. Urin mit zugesetztem Traubenzucker.

Lehmann: 0,66 ‰. Knapp (Zinnchlorür) 0,64 ‰.

II. Diabetischer Urin. Gewicht 1035.

Lehmann: 6,73 ‰. Knapp: 6,65 ‰.

Versuch	Gehalt ‰	cc	Ge- funden ‰	Knapp ‰	Leh- mann ‰	Sachsse ‰	
III	etwa 1,01)	8,8	0,968	0,98	—	0,97	
IV	0,909	8,15	0,8965	0,91	0,885 ²⁾	0,914	
V	0,5125	4,6	0,506	—	—	—	
VI	0,701	6,2	0,682	—	—	—	Gärung: 0,68
VII	0,625	5,5	0,608	—	0,571 ²⁾	—	
VIII	0,3125	2,9	0,319	—	—	—	
IX (Harn)	?	5,3	0,588	0,58	³⁾	0,59	
X (Harn)	?	12,6	1,386	1,37	³⁾	—	
XI (Harn)	?	8,0	0,88	0,88	—	—	

6 Versuche mit demselben Reagens von Sachsse (ein wenig zu stark) gaben nur eine Differenz zwischen 12,5 und 12,6 cc.

Die Resultate müssen befriedigend genannt werden. Im Vergleich zu solchen mit bekanntem Zuckergehalt ist das Resultat ein wenig zu niedrig, was theils darin seinen Grund hat, dass etwas Quecksilber der Titrierung entgeht, theils einem möglichen Verluste von Quecksilber zuzuschreiben ist.

Die Resultate der oben beschriebenen zwei Zuckerbestimmungsmethoden müssen vom klinischen Standpunkte aus, und sie sind eben für die klinisch-wissenschaftliche Medizin berechnet, völlig befriedigend genannt werden. Grössere Genauigkeit lässt sich kaum erreichen ohne kompliziertere und zeitraubendere Methoden.

Diese Untersuchungen sind theils auf der Abteilung A des medizinischen Laboratoriums des königlichen Friederichs Hospitals, theils auf dem Laboratorium des Hospitals in Baldersgade ausgeführt, deren Chefs Professor Dr. med. Chr. Gram und Oberarzt Dr. med. H. Jacobäus ich hierdurch meinen aufrichtigsten Dank abstatte.

¹⁾ Der Zucker war nicht ganz wasserfrei.

²⁾ Nochmals filtriert.

³⁾ Die Filtrierung misslang.