

Eine einfache und genaue Methode zur Zuckerbestimmung im Harn

von

Josef Bilinski.

(Vorgelegt in der Sitzung am 20. Oktober 1904.)

Von allen chemischen Methoden zur quantitativen Zuckerbestimmung im Harn ist wohl die Fehling'sche die geeignetste. Sie läßt sich am schnellsten ausführen, verlangt keine Laboratoriumseinrichtung und keine besondere technische Übung. Die Methode beruht darauf, diejenige Menge Zuckerharn zu finden, welche gerade genügt, um in einem bestimmten Volumen Fehling'scher Lösung beim Aufkochen sämtliches vorhandene Kupferoxyd zu reduzieren. Ausdruck der vollständigen Reduktion ist eine farblose Schichte, die sich über dem gesenkten Kupferoxydul bilden soll. Diese Reaktion tritt bei zuckerreichen Harnen nach einigem Stehen auch wirklich ein.

Anders verhalten sich zuckerärmere Harne. Hier braucht man eine größere Harnmenge, um die Fehling'sche Lösung zu reduzieren. Das beim Erwärmen entwickelte Ammoniak löst einen Teil des Kupferoxyduls auf und dieses wird in Berührung mit dem Sauerstoffe der Luft oxydiert. Infolgedessen bildet sich eine oberste blaue Schichte. Fügen wir zu einer solchen Mischung mehr Harn hinzu, so begehen wir einen Fehler, denn wir verwenden eine gewisse Harnmenge zur Reduktion des schon einmal reduziert gewesenen Kupfers. Aus diesem Grunde darf man keine farblose Flüssigkeit erwarten und ebensowenig im Filtrat mit Ferrocyankali auf noch nicht reduziertes Kupfer suchen.

Außerdem wird verlangt, daß die Mischung ordentlich siede. Dabei kommt aber die Wirkung anderer reduzierender Substanzen zur Geltung.

Ich war nun bemüht ein Mittel zu finden, durch welches diese Störungen beseitigt oder wenigstens vermindert werden könnten. Dies ist mir dadurch gelungen, daß ich Urannitrat als Klärungsmittel für den Harn und als Indikator für die Endreaktion benützte.

Prinzip.

Man versetzt ein bestimmtes Quantum einer Fehling'schen Lösung von bekanntem Gehalte mit so viel mit Urannitrat geklärtem Zuckerharn, daß beim Erhitzen (nicht Kochen) sämtliches Kupferoxyd reduziert wird. Um diesen Punkt zu erkennen, setzt man der Mischung von Harn und Fehling'scher Lösung noch einige Tropfen Uranlösung (4:100) zu und erhitzt dann. Ist einmal alles Kupferoxyd reduziert, so wird bei Gegenwart der kleinsten überschüssigen Zuckermenge auch Uran reduziert und dieses verleiht dem ausgefällten Kupferoxydul, je nachdem es Hydrat oder Anhydrid ist, eine grüne respektive bräunliche Färbung.

Ausführung.

Man versetzt 50 cm^3 des zu untersuchenden Harnes mit so viel Urannitratlösung (4:100), daß ein Tropfen dieser Mischung, mit einem Glasstabe herausgenommen, pulverisiertes Ferrocyankali braunrot färbt. Die Probe wird auf einer weißen Unterlage ausgeführt (Porzellanplatte, weißes Papier). Gewöhnlich sind 10 bis 20 cm^3 Urannitratlösung nötig, um die Phosphorsäure auszufällen. Dann füllt man mit destilliertem Wasser auf 100 cm^3 auf, filtriert und macht mit diesem Harnmischung (1:1) folgende Vorversuche zur Ermittlung der annähernden Zuckermenge:

Man bringt in zwei größere Reagenzgläser (von etwa 19 cm Höhe und 40 cm^3 Inhalt) je 6 cm^3 Fehling'scher Lösung. (Für alle Bestimmungen verwende man nur solche Gläser, keine Kölbchen; ebenso stets die gleiche Menge von Fehling'scher Lösung, und zwar 6 cm^3 .)

Die Fehling'sche Lösung enthält:

1. 34·639 g schwefelsaures Kupfer ($\text{CuSO}_4 + 5\text{H}_2\text{O}$), in destilliertem Wasser aufgelöst, auf 500 cm^3 aufgefüllt und filtriert.

2. 60 g festes Natronhydrat und 173 g Seignettsalz, in destilliertem Wasser aufgelöst, auf 500 cm^3 aufgefüllt, filtriert und mit 5 cm^3 Phenol versetzt.

Die beiden Flüssigkeiten sind getrennt aufzubewahren und erst im Gebrauchsfall die nötigen Quanta zu gleichen Teilen zu mischen. Dem Inhalte der oben erwähnten Gläser setze man je nach dem spezifischen Gewichte zwei verschiedene Mengen von unserem geklärten und verdünnten Harn zu (z. B. $1\cdot5$ und 2 cm^3), außerdem noch destilliertes Wasser (5 cm^3), schüttele um und koche auf. Nach einigen Minuten setzt sich das rotgelbe oder tiefrote Kupferoxydul ab. War in beiden Proben die darüberstehende Flüssigkeitssäule blau geblieben, so füge man zu der Probe mit 2 cm^3 je nach der Intensität der blauen Farbe noch einige Zehntelkubikzentimeter Harn hinzu, koche neuerlich auf und beobachte die Flüssigkeit. Ist sie nach einigem Stehen farblos, dann ist für unseren Zweck alles Kupfer reduziert. Man beobachte dabei nur die oberste Schichte, ohne sich durch die bläuliche Nuance der unteren Schichte irreführen zu lassen (komplementäre Farbe). Ist aber die Probe bereits gelblich oder grünlich, so ist dies ein Beweis, daß zu viel Harn zugesetzt war. Diese Färbungen rühren her von der Einwirkung der Natronlauge respektive des Urans auf den überschüssigen Zucker. Man setze dann zur andern Probe (mit $1\cdot5\text{ cm}^3$ Harn) eine etwas kleinere Harnmenge hinzu als die, welche zur ersten Probe genommen worden war. Wird nun die Probe farblos, so ist die Reaktion gelungen. Soweit die Vorversuche.

Zur genauen Bestimmung verdünne man den Harn je nach dem in den Vorversuchen gefundenen, approximativen Zucker-gehalt auf das Fünf- bis Sieben- und Zehnfache seines Volumens. Man bringe in ein Reagenzglas mit 6 cm^3 Fehling'scher Lösung auf einmal eine der Vorprobe entsprechende Menge dieses verdünnten Harnes und setze dann noch zwei bis drei Tropfen Uranlösung zu. Es bildet sich nunmehr ein gelber Niederschlag von entstandenem Uranat. Man schüttele um, erhitze fast zum Kochen und stelle dann die Probe bei Seite.

In ein anderes Reagenzglas mit Fehling'scher Lösung gebe man eine um $0\cdot10\text{ cm}^3$ größere Harnmenge, füge zwei bis drei Tropfen Uralösung hinzu, vermische und erhitze wie oben. Ist die Flüssigkeit der ersten Probe nach dem Erhitzen und Absetzen schwach gelblich und der Niederschlag von Kupferoxydul rein gelb oder rein rot, während in der zweiten $0\cdot10\text{ cm}^3$ mehr Harn enthaltenden die Flüssigkeit grün respektive der Kupferoxydulniederschlag grüngelb oder dunkelrot ist, so war die bei der ersten Probe verwendete Harnmenge gerade ausreichend, um die Fehling'sche Lösung zu reduzieren.

Eine ganz farblose Flüssigkeit darf man hier infolge des im Überschusse zugesetzten Urans nicht erwarten. Man muß die Proben genügend erhitzen, denn bei zu schwachem Erhitzen würde sich das Kupferoxydul schwerer absetzen. Da wir mit stark verdünnten Lösungen arbeiten, so ist es nicht möglich, kleinste Mengen nicht reduzierten Kupferoxydes der Färbung nach deutlich zu erkennen, dagegen ist die Reaktion kleinster Mengen überschüssigen Harnzuckers eine sehr deutliche.

Hat man diese gefunden und gibt dann eine um $0\cdot10\text{ cm}^3$ geringere Harnmenge (d. h. unseres fünf- bis sieben- und zehnfach verdünnten Harnes) diese Reaktion nicht mehr, so war eben diese letzte Harnmenge die richtige.

Der Niederschlag von Kupferoxydul setzt sich aber nur dann in kurzer Zeit (einige Minuten) vollständig zu Boden, wenn verhältnismäßig zuckerreiche Harne (über 15‰) zur Verwendung kommen, d. h. wenn man mit kleinen Harnvolumina arbeitet, so daß das Verhältnis Harn zu Fehling'scher Lösung die Proportion 2 : 6 nicht überschreitet.

Handelt es sich um zuckerärmere Harne (unter 15‰), so daß man schon größere Harnvolumina verwenden muß, so setzt sich das Kupferoxydul schwerer, respektive langsamer ab. Gerade dieses langsame Absetzen kann uns bei der Ausführung der Vorprobe einen Fingerzeig geben, daß wir es mit einem solchen zuckerärmeren Harn zu tun haben.

Von Harnen unter 10‰ werden wir weiter unten sprechen. Hier ein Beispiel des Verlaufes der Probe bei einem Zuckergehalte zwischen 15 und 10‰ .

Ich nehme zum Ausgangspunkte meiner Vorprobe an, der vorliegende Harn enthalte $15\frac{0}{100}$ Zucker, und setze dem entsprechend zu den 6 cm^3 Fehling'scher Lösung 4 cm^3 unseres geklärten und verdünnten Harnes, dann zwei bis drei Tropfen Uranlösung und etwas Wasser (5 cm^3) zu. Setzt sich jetzt nach dem Aufkochen das gebildete Kupferoxydul nur langsam zu Boden, d. h. kann ich nicht nach einigen Minuten schon die Bildung einer klaren, farblosen respektive schwach gelblichen Flüssigkeitssäule konstatieren, so kann ich schon daraus schließen, daß meine Harnmenge zur Reduktion des vorhandenen Kupfers nicht ausreichend war (der Harn war zuckerärmer), ohne daß ich erst das Absetzen des Niederschlages abwarten müßte. Die ganze Probe hat dann durch das suspendierte Kupferoxydul eine rotgelbe Färbung. Nach dem Absetzen des Niederschlages würde sich allerdings eine blaue Flüssigkeitssäule bilden, die mir das Vorhandensein nicht reduzierten Kupferoxydes deutlich anzeigte, aber es wäre zu zeitraubend, das abzuwarten. Es wird sich jetzt empfehlen, zu derselben Probe von dem verdünnten und geklärten Harn weiter zuzusetzen (vielleicht ein jedesmal ein $\frac{1}{2}\text{ cm}^3$), nach jedem Zusetzen wieder aufzukochen, bis man eine deutliche Reaktion überschüssigen Zuckers erhält (dunkelgrüne Farbe der ganzen Probe durch die Reduktion des Urans).

Durch die letzten zwei Proben haben wir die Grenzen unserer Zuckerbestimmung auf zirka $1\frac{0}{100}$ eingeengt (sicherer kommt man zum Ziele, wenn man gleichzeitig zwei Proben ausführt).

Bei Harnen mit größerem Zuckergehalte setzten wir bei den Vorproben kein Uran zum geklärten Harn zu. Ein Maßstab zur Beurteilung lag in der Entstehung einer farblosen Flüssigkeit. Das Kupferoxydul setzte sich dort schnell ab. Bei den hier in Rede stehenden zuckerärmeren Harnen dagegen verwenden wir das Auftreten überschüssigen Harnzuckers respektive die Reduktion eigens zugesetzten Urans durch denselben als Endreaktion, so wie wir dies schon bei der genauen Ausführung der Probe bei zuckerreichen Harnen getan haben.

Um die genaue Zuckermenge zu erfahren und um die Reduktion unterhalb der Siedehitze durchzuführen, verdünnen wir unseren Harn auf das Fünffache, geben in zwei Reagenz-

gläser mit je 6 cm^3 Fehling'scher Lösung zwei verschiedene, der Vorprobe entsprechende Harnmengen und hinterher zwei bis drei Tropfen Uranlösung und erhitzen fast zum Kochen. Zur Beurteilung warten wir nur so lange (einige Minuten), bis sich der Niederschlag so weit abgesetzt hat, daß wir aus seiner Farbe einen Schluß ziehen können. Ein grüngelber Niederschlag bedeutet Zuckerüberschuß, ein rotgelber die richtige Harnmenge, wenn sie von der zur Entstehung eines grüngelben Niederschlages verbrauchten um nicht mehr als 0.20 cm^3 differiert.

Ist der Harn noch zuckerärmer, unter 10‰ , so zwar, daß wir zur Reduktion von 6 cm^3 Fehling'scher Lösung mehr als 3 cm^3 Harn brauchen, so sind folgende Punkte in Betracht zu ziehen:

1. Beim Kochen eines solchen Harnes mit Fehling'scher Lösung entwickelt sich Ammoniak, welches einen Teil des reduzierten Kupferoxyduls auflöst. Dieses gelöste Kupferoxydul wird an der Oberfläche der Flüssigkeitssäule durch den Sauerstoff der Luft wieder oxydiert. Die Folge ist eine an der Oberfläche sich bildende blaue Schichte.

War nun die verwendete Harnmenge zur Reduktion der Fehling'schen Lösung ausreichend, so bildet sich unter dieser obersten blauen Schichte eine rein rotgelbe Flüssigkeitssäule als Ausdruck der Reduktion sämtlichen vorhandenen Kupferoxydes.

Hatte die Harnmenge zur Reduktion des vorhandenen Kupferoxydes nicht genügt, so wird die bläuliche Farbe der Lösung durch das suspendierte rotgelbe Kupferoxydul durchschlagen, um so stärker, je weiter wir von der ausreichenden Harnmenge entfernt waren. Natürlich wird diese bläuliche Farbe der Flüssigkeitssäule ohne deutliche Grenze in die der oben erwähnten obersten Schichte übergehen.

Einen Überschuß an Harn respektive an Zucker endlich erkennen wir an der schon mehrmals erwähnten durch Reduktion des Urans bedingten dunkelgrünen Färbung der Mischung.

Dazu ist noch eines zu bemerken.

Bei Harnen mit sinkendem Zuckergehalte wird die Flüssigkeitssäule nach ungenügendem Harnzusätze keine rein bläuliche Farbe darbieten, sondern wird infolge der notwendiger-

weise verwendeten größeren Harnmenge mehr ins Grünliche hinüberspielen. Diese gelbgrüne Färbung ist nicht zu verwechseln mit der durch Uranreduktion bedingten dunkelgrünen. Man hat nur zu bedenken, daß die letztere erst nach Reduktion sämtlichen Kupferoxydes eintritt, d. h. nachdem die Probe eine deutliche rotgelbe Färbung schon geboten hatte. In diesem Falle wird eine Zugabe weiterer Harnmenge diese grüne Farbe noch stärker akzentuieren, im andern schließlich doch ein Auftreten rotgelber Farbe hervorrufen.

2. Sinkt der Zuckergehalt des Harnes unter 6‰ , d. h. muß ich Volumina von 5 und mehr Kubikzentimeter Harn zur Reduktion der 6 cm^3 Fehling'schen Lösung verwenden, so kommt die dunkelgrüne Endreaktion durch Reduktion des Urans überhaupt nicht mehr zu stande. Denn Bedingung für ihr Eintreten ist ein gewisser Alkalitätsgrad der Flüssigkeit und dieser ist in unserem Falle durch den Zusatz großer Harnmengen beträchtlich herabgesetzt. Man könnte sich dadurch helfen, daß man die Mischung durch Zusatz von Lauge alkalischer macht. Am besten geschieht dies durch Tabletten von Natriumhydrat. Je größer die verwendete Harnmenge, desto mehr Alkali muß man natürlich zusetzen. Für Harn mit zirka 5‰ werden etwa $0\cdot40$ Natriumhydrat genügen.

In Fällen von minimalstem Zuckergehalte, bis 2‰ hinauf, gelingt es aber auch, durch Alkalizusatz nicht mehr eine Endreaktion zu stande zu bringen. Schon die gelbgrünliche Farbe des Harn-Fehling-Gemisches und das Nichtausscheidenwollen von Kupferoxydul deuten uns an, daß wir es mit einem solchen Harn zu tun haben.

Wir empfehlen deshalb den Zusatz von Alkali für die Praxis überhaupt nicht. Viel besser hat sich uns folgender einfacher Kunstgriff bewährt: Sind wir durch sukzessiven Harnzusatz zu unserer Vorprobe, ohne eine Endreaktion auf überschüssigen Zucker erhalten zu haben, zu einem solchen Harnverbrauch gekommen (über 5 cm^3), der uns einen Zuckergehalt von unter 6‰ anzeigt, so wissen wir nach dem oben Gesagten, daß wir eine solche auch nicht mehr zu erwarten haben. Wir wissen aber auch, daß unser Zuckergehalt unter 6‰ steht. Wir nehmen nun 40 cm^3 unseres geklärten und (1:1) verdünnten

Harnes und setzen 0·30 g Traubenzucker zu, d. h. wir schaffen uns künstlich einen Harn von sicher mehr als 15‰ Zuckergehalt. Diese Mischung verwenden wir nun zur genauen Bestimmung des Zuckergehaltes nach den zu Anfang gegebenen Regeln.

Aber auch dann, wenn wir in der Vorprobe durch Eintreten der Uranreduktion einen Zuckergehalt zwischen 10‰ und 6‰ feststellen konnten, wird es sich empfehlen, zur genauen Ausführung der Probe durch Zusatz von Traubenzucker den Harn auf einen Zuckergehalt von über 15‰ zu bringen. Wir werden damit günstige Bedingungen für das schnelle Absetzen des Kupferoxyduls schaffen und die störende Wirkung des Ammoniaks ausschalten. Von der gefundenen wird die zugesetzte Zuckermenge abgezogen.

Die Berechnung des Zuckergehaltes bietet keine Schwierigkeiten. Wir verwenden immer die gleiche Menge Fehling'scher Lösung, nämlich 6 cm³. Zur vollständigen Reduktion des in dieser Menge enthaltenen Kupferoxydes sind 0·03 g Zucker nötig.

Die bei der Probe gefundene ausreichende Harnmenge enthält demnach 0·03 g Zucker. Anschließend gebe ich noch eine Tabelle der Promillezahlen des Zuckergehaltes, welche der bei der Probe verbrauchten Harnmenge entsprechen.

Zur Reduktion verbrauchte Harn- menge in Kubik- zentimetern	Zuckergehalt in 1000 cm ³	Zur Reduktion verbrauchte Harn- menge in Kubik- zentimetern	Zuckergehalt in 1000 cm ³
0·40	75 g	1·60	18·7 g
0·45	66·6	1·70	17·6
0·50	60	1·80	16·6
0·55	54·5	1·90	15·8
0·60	50	2	15
0·65	46	2·10	14
0·70	42·8	2·20	13·6
0·75	40	2·30	13·1
0·80	37·5	2·40	12·5
0·85	35·2	2·50	12
0·90	33·3	2·60	11·5
0·95	31·5	2·70	11·1
1	30	2·80	10·7
1·10	27·2	2·90	10·3
1·20	25	3	10
1·30	23		
1·40	21·4		
1·50	20		

Die Methode habe ich in einer Reihe von Versuchen an zuckerfreien Harnen, zu denen eine bekannte Zuckermenge zugesetzt wurde, geprüft. Ich konnte immer mit Sicherheit die kleinsten Zuckermengen quantitativ bestimmen.

Die Methode, auf Harnen Zuckerkranker angewendet, hat dieselben befriedigenden, durch Polarisation kontrollierten Ergebnisse geliefert.

Ich habe noch die Eigenschaft des Urans als Harnkonservierungsmittel hervorzuheben. Nach wochenlangem Stehen verlor so behandelter Harn nichts von seinem Zuckergehalt und eignete sich noch zur Analyse.

Ein anderer Vorteil der Methode ist, daß durch den Uranzusatz die Harnfarbstoffe und eventuell vorhandenes Eiweiß ausgefällt werden. Dadurch wird das Kochen des Harnes zur Entfernung von Eiweiß überflüssig.
