

ZEITSCHRIFT

FÜR

B I O L O G I E

VON

W. KÜHNE,

UND

C. VOIT,

O. Ö. PROFESSOR DER PHYSIOLOGIE IN HEIDELBERG,

O. Ö. PROFESSOR DER PHYSIOLOGIE IN MÜNCHEN.

NEUE FOLGE: ZWEITER BAND.
DER GANZEN REIHE: ZWANZIGSTER BAND.



MÜNCHEN UND LEIPZIG 1884.

DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.

Zusammenstellung der Kost siebenbürgischer Feldarbeiter. Von Dr. Wilhelm Ohlmüller	393
Ueber die Einwirkung von Bleiacetat auf Trauben- und Milchzucker. Von Dr. Max Rubner	397
Ueber die Wärmebildung beim Lösen von Harnstoff in Wasser. Von Dr. Max Rubner	414
Studien über Methämoglobin. Von Professor Axel Jäderholm	419
Histo-physiologische Untersuchungen über die Verbreitung der Nerven in den Muskeln. Von Dr. K. Mays	449
Widerlegung der Bemerkungen E. du Bois-Reymond's über mehrfache Nervenendigungen an einer Muskelfaser. Von W. Kühne	531
Ueber die titrimetrische Bestimmung des Harnstoffs. Von Dr. Th. Pfeiffer	540
Der Stoffwechsel von fünf Kindern im Alter von 5 bis 15 Jahren. Von Dr. W. Camerer	566

Zur Kenntniss des Cystins.

Von

E. Kütz.

(Aus dem physiologischen Institut zu Marburg.)

In den Jahren 1868 und 1869 beschäftigte ich¹⁾ mich im Laboratorium von Carius mit der synthetischen Darstellung des Cystins. Gern hätte ich vor Beginn dieser Versuche eine Reihe von Analysen zur Sicherstellung der empirischen Formel des Cystins angestellt; es war mir jedoch nicht möglich, das seltene Material in hinreichender Menge zu beschaffen. Wenn mir seitdem auch ab und zu kleinere Mengen von Cystin in die Hände fielen, so bin ich doch erst in den letzten drei Jahren in den Besitz hinreichenden Materials gelangt, so dass ich das, was ich damals versäumen musste, nachholen konnte.

Zunächst gebe ich eine kurze Uebersicht der hinsichtlich der Analysen des Cystins vorliegenden Literatur.

Von Prout²⁾, der die erste Elementaranalyse vom Cystin lieferte, wurde der Schwefelgehalt übersehen, der später von Baudrimont³⁾ nachgewiesen und bestimmt wurde.

Thaulow⁴⁾ lieferte eine Elementaranalyse, eine Stickstoff- und eine Schwefelbestimmung. Alle drei Analysen wurden mit einem keiner weiteren Reinigung unterzogenen, „nur eine ausserordentlich

1) E. Kütz, Versuche zur Synthese des Cystins nebst Untersuchung der allylschwefligen Säure und einiger Salze derselben. Dissert. Marburg 1871.

2) Gmelin, Handbuch der organischen Chemie 4. Aufl. Bd. 2 S. 133 und Liebig's Annalen Bd. 27 S. 197 u. 200.

3) Journ. de Pharm. t. 24 p. 663.

4) Annal. der Chem. u. Pharm. Bd. 27, S. 197.

Ueber die Einwirkung von Bleiacetat auf Trauben- und Milchzucker.

Von

Dr. Max Rubner.

(Aus dem physiologischen Institute zu München.)

Zum Nachweise der Zuckerarten können eine grosse Anzahl von Reactionen benützt werden. Doch sind solche, welche gerade für einen dieser Stoffe charakteristisch wären, dürftig und unvollkommen; namentlich macht sich dieser Mangel in jenen Fällen geltend, wo es sich um Bestimmung einer kleinen Zuckermenge handelt und womöglich eine einzige Reaction über die Qualität des vorliegenden Stoffes entscheiden soll. Nur für den Traubenzucker besitzen wir seit einiger Zeit in dem sog. Barföd'schen Reagens ein Mittel, ersteren sofort durch sein Verhalten: aus einer Lösung von essigsaurem Kupfer mit etwas freier Essigsäure Kupferoxydul auszuscheiden, zu erkennen. Für den Milchzucker, dessen Nachweis Hofmeister und dann Kaltenbach in dem Harn der Wöchnerinnen viele Schwierigkeiten bereitete, besitzen wir gar keine derartige specielle Reaction. Ebenso fehlt es an einer scharfen und entscheidenden Rohrzuckerreaction. Durch Beobachtungen, welche ich über das Verhalten der Zuckerarten zu Bleizucker und NH_3 gemacht habe, bin ich in der Lage die bestehenden Lücken theilweise auszufüllen.

I. Traubenzuckerreaction.

1.

Bei der Untersuchung einer Stärke-, Trauben- und Milchezucker haltigen Flüssigkeit, zu welcher Bleizucker zugesetzt war, habe ich schon vor mehreren Jahren eine eigenthümliche Rothfärbung der Mischung beobachtet; es waren auch kleine kirschroth gefärbte, harte Krystalle an der Wandung des Glases angeschossen. Wie sich bei weiterer Verfolgung dieser Thatsache herausstellte, liess sich eine rothe Fällung immer erzeugen, wenn man Bleizucker mit Traubenzucker unter bestimmten Verhältnissen zusammenbrachte. Es entsteht nämlich immer dann die Rothfärbung, wenn man zu einer verdünnten Traubenzuckerlösung etwas Bleizuckerlösung hinzufügt und nun Ammoniak eintrüfelt bis eben ein bleibender Niederschlag auftritt und dann erwärmt oder einige Zeit bei Zimmertemperatur stehen lässt. Im ersten Falle erhält man unmittelbar, im letztern nach einigen Stunden eine Verfärbung des Niederschlags zu rosaroth oder fleischroth. Dieser Farbenton hält dann viele Stunden bis Tage an. Verfolgt man den Verlauf der Reaction beim Erwärmen auf dem Bunsenbrenner, so erkennt man zunächst eine zunehmende Trübung, bald, etwa 12—15 Sec. nach Beginn des Erhitzens, scheint sich an einigen Stellen die Trübung aufzuhellen, wobei ein gelber bis rother Farbenton auftritt; endlich ist die ganze Flüssigkeit heller geworden, sie ist durchweg rosa gefärbt. Bis zu diesem Momente vergehen in der Regel 20 Sec. Die Aufhellung ist ganz kurz; der Niederschlag scheidet sich sofort ab. Viel langsamer ist, wie schon erwähnt, die Umsetzung bei Zimmertemperatur: eine 1 proc. Traubenzuckerlösung hatte sich nach 24 Stunden, eine 0,5 und eine 0,25 proc. aber schon nach 9 Stunden rosa bis fleischfarben gefärbt.

Die Einwirkung von Bleizucker und Ammoniak auf den Traubenzucker unter Rothfärbung tritt nicht unter allen Umständen ein, es müssen vielmehr, wenn die Empfindlichkeit der Reaction eine bedeutende sein soll, gewisse Cautelen eingehalten werden. Zunächst muss aufs bestimmteste darauf gesehen werden, dass zuerst der Bleizucker und dann erst das NH_3 zugesetzt werde, und

dass, — was gleich des Näheren erörtert werden soll — Bleizucker und Ammoniak in einem der aufzusuchenden Zuckermenge entsprechenden Gewichtsverhältniss zugefügt werde. In allen Fällen dürfte es genügen, auf 20^{ccm} der zu untersuchenden Flüssigkeit unbekanntem Zuckergehalts etwa 1—1,5^{ccm} der in den Laboratorien verwendeten Bleizuckerlösung hinzuzufügen. Wie ich in vielen Fällen gesehen habe, genügt eine derartige Menge, um selbst ganz kleine Zuckermengen aufzufinden, und bildet für einen hohen Zuckergehalt der Flüssigkeit keineswegs ein Hinderniss für den Nachweis. Unter 1^{ccm} Bleizuckerlösung wird man wohl nicht gut heruntergehen können.

Weit schwieriger als der Bleizuckerzusatz ist der Zusatz des Ammoniaks. Man kann aber nie fehlerhaft verfahren, wenn man sich an die bereits gegebene Regel hält, nur soviel zuzufügen, dass eben ein bleibender Niederschlag entsteht. Zu reichlicher Ammoniakzusatz stört die Reaction, was aus folgendem hervorgeht:

	Traubenzucker- Lösung		Bleizucker		
5 ^{ccm}	einer 0,25 %	+	1 ^{ccm}	+	2 ^{ccm} NH_3 gute Reaction,
5	" 0,25 %	+	1	+	3 " langsam eintretende Reaction,
5	" 0,25 %	+	1	+	6 " sehr verzögerte Reaction.
5	" 0,25 %	+	0,5	+	2 " langsame Reaction,
5	" 0,25 %	+	0,2	+	2 " keine Reaction.

In letzterem Falle störte offenbar nur die grosse NH_3 -Menge, denn

	Traubenzucker- Lösung		Bleizucker		
5 ^{ccm}	einer 0,25 %	+	0,5 ^{ccm}	+	1 ^{ccm} NH_3 gab eine gute Reaction
5	" 0,25 %	+	0,2	+	0,5 " gab schwächere, aber deutliche Reaction.

In den Handbüchern ist der hier mitgetheilten Traubenzuckerreaction nirgends Erwähnung gethan; doch habe ich bei genauer Durchsicht der Literatur eine kurze Bemerkung Ottmar Schmid's gefunden, aus der hervorgeht, dass dieser offenbar Aehnliches an Traubenzuckerlösungen schon beobachtet hat, wie ich¹⁾. Er bemerkt, dass eine ammoniakalische Traubenzucker-, nicht aber Rohr-

1) Ueber Traubenzucker, Salicin- und Amygdalinzucker von Ottmar Schmidt, Inauguraldissertation, Göttingen 1861 p. 31.

zuckerlösung, sowohl in der Kälte als beim Erwärmen mit Bleizucker einen rothen Niederschlag gebe. Wie aus dem von mir Gesagten bereits hervorgeht, ist eine Anstellung der Reaction in dieser von O. Schmidt gegebenen Weise nicht wohl thunlich und sehr unempfindlich. Ein ähnlicher Niederschlag wie derjenige, welcher durch Behandeln einer ammoniakalischen Traubenzuckerlösung mit Bleizucker entsteht, soll nach O. Schmidt erhalten werden, wenn man Traubenzucker mit Bleiessig kocht, erkalten lässt, wieder mit Weingeist kocht und dann abkühlt. Dieses Verhalten habe ich nicht näher geprüft. Schmidt meinte, es liesse sich nach seiner Angabe Traubenzucker und Rohrzucker unterscheiden. Zur Aufsuchung geringer Zuckermengen ist sein Verfahren jedenfalls nicht anwendbar.

Die Empfindlichkeit der Reaction, in der von mir angegebenen Weise ausgeführt, kann eine recht beträchtliche genannt werden; so fand sich:

Traubenzucker		Bleizucker		
5 ^{cem}	0,2%	+ 1 ^{cem}	+ 2 ^{cem} NH ₃	gibt beim Erwärmen innerhalb 20 Sek. die Reaction,
5	0,1	+ 0,5	+ 1	„ gibt beim Erwärmen deutl. Reaction,
5	0,05	+ 0,5	+ 1	„ Gelbfärbung beim Stehen, dann die Reaction,
5	0,02	+ 0,5	+ 1	„ gelbröthlicher Niederschlag,
5	0,01	+ 0,5	+ 1	„ gelber Niederschlag.

Noch weitere Verdünnungen gaben nur mehr eine Spur eines weissen Niederschlags. Der gelbe Niederschlag bei 0,01% hatte nichts besonders Charakteristisches. Die Grenze der Empfindlichkeit dürfte also wohl zwischen 0,02—0,01% Traubenzuckergehalt liegen.

Ich habe auch eine Mischung von Dextrin und Traubenzucker untersucht und dabei ergab sich: 10^{cem} einer 1 proc. Dextrinlösung wurden mit 5 Tropfen, 10 Tropfen und 20 Tropfen einer 1 proc. Traubenzuckerlösung versetzt, die Lösungen entsprachen also circa einem Gehalt von

0,03%	Traubenzucker	und gaben nach Barföd	negativ, meine Reaction	negativ,
0,06	„	„	negativ, nach mir keine Reaction,	„
			beim Stehen gelbröthl. Färbung,	
0,12	„	„	positiv, meine Reaction	positiv.

Durch Mischung mit einer fremden Substanz ward die Empfindlichkeit der Bleizuckerreaction herabgesetzt; sie ist aber immerhin ebenso gross wie die des Barföd'schen Reagens.

Ich muss hier gleich die Frage anknüpfen: Ist die Bleizuckerreaction wirklich eine dem Traubenzucker allein zukommende oder nicht? Es ist oben schon hervorgehoben worden, dass O. Schmidt dadurch Traubenzucker und Rohrzucker unterscheiden zu können glaubt und auch ich habe mich von der Thatsache überzeugt, dass Rohrzucker, in der von mir angegebenen Weise geprüft, keine Rothfärbung gibt; ich habe aber auch gefunden, dass mit Dextrin stets ein negatives Resultat erhalten wird. Der Milchezucker verhält sich bei Einhaltung bestimmter Regeln ebenso.

Der Milchezucker wird durch längeres Kochen mit Bleizucker + NH₃, besonders wenn concentrirte Zuckerlösungen angewendet werden, so verändert, dass er eine schwache Verfärbung gibt. Die Probe fällt dagegen völlig negativ aus, wenn man nie länger als 20—25 Sec. die zu untersuchende Flüssigkeit in der Flamme lässt (bei 10^{cem}). Diese Zeit der Erwärmung genügt, um den Traubenzucker nachzuweisen. Mit Berücksichtigung dieses Verhaltens des Milchezuckers kann man also sagen, die Eigenschaft, ammoniakalische Bleizuckerlösungen in der Wärme oder bei langem Stehen bei Zimmertemperatur roth zu färben, hat nur der Traubenzucker, dagegen nicht der Rohrzucker, Dextrin und Milchezucker, und steht uns in diesem Verhalten ein, ebenso brauchbares Mittel wie das Barföd'sche Reagens zur Verfügung.

Der bei der Traubenzuckerreaction mit Bleizucker und Ammoniak entstehende Niederschlag setzt sich leicht ab. Er wird durch Säuren, Alkalien, viel Wasser, kaum aber durch Alkohol zerlegt und scheint aus Zuckerblei zu bestehen. Wenigstens färbt sich wohlausgewaschenes Zuckerblei beim Kochen in Wasser roth, ohne dass dann die Flüssigkeit eine nennenswerthe Menge Zuckers enthielte. Erst wenn man den rothen Niederschlag zerlegt, kann eine kräftige Zuckerreaction nach Trommer im Filtrate erhalten werden.

Auch eine andere Thatsache scheint mir darauf hinzuweisen, dass man in dem rothen Niederschlage Zuckerblei vor sich habe:

5^{ccm} einer 20 proc. Zuckerlösung wurden mit Bleizucker, dann mit NH₃ versetzt, bis zur eintretenden Traubenzuckerreaction erwärmt; nun mit SH₂ zerlegt, abfiltrirt = 12^{ccm} Filtrat. Diese gaben für eine Rohrlänge von 5^{cm} mit dem Soleil-Ventzke'schen Apparat eine Drehung von 4,0—4,1 = 0,984^g Zucker pro 12^{ccm} Filtrat; angewendet wurden 1,0^g. Also kann jedenfalls keine nennenswerthe Menge Zucker bei dieser Reaction zu Grunde gehen, was für viele Fälle, in denen man mit kleinen Substanzmengen zu arbeiten hat, von Wichtigkeit ist, da sich dann nach dem Entbleien noch andere Proben anstellen lassen.

2.

Ich habe angegeben, dass bei grossen Verdünnungen der Traubenzuckerlösungen die Fleischfarbe des Niederschlags sich allmählich verliert und bei 0,02 % Zuckergehalt ein etwas mehr gelber, dann fleischfarbener Niederschlag, bei 0,01 % aber nur mehr etwas gelber Niederschlag ausfällt. Auch dieser gelbgefärbte Niederschlag ist gewiss durch den Traubenzucker hervorgerufen und nur eine Modification der Probe. Es lässt sich nämlich zeigen, dass mit jeder beliebigen Traubenzuckerlösung auch ein gelbrother, etwa an Bleioxyd bezüglich seiner Farbe erinnernder Niederschlag erhalten werden kann. Wird eine beliebige Traubenzuckerlösung mit einer grösseren Menge gepulverten Bleizuckers versetzt und einige Zeit gekocht, sodann in die siedende Lösung Ammoniak eingeträufelt, bis eben ein dauernder Niederschlag entsteht, so färbt sich fast unmittelbar die ganze Lösung gelb und je nach der Concentration dann roth; es setzt sich ein ebenso gefärbter flockiger Niederschlag ab, der aber bald in eine an Bleioxyd erinnernde gelbe Farbe übergeht. Immer erfolgt der erste Uebergang des Gelb in Roth sehr rasch; doch ist der Verlauf der Reaction zeitlich etwas verschieden, je nach der Concentration der verwendeten Traubenzuckerlösungen.

Je nach der Concentration der Lösungen muss die Bleizucker- menge, welche zur kräftigsten Reaction nöthig ist, variirt werden. Einen Ueberblick über die Methode werden folgende für einige Fälle genauer bestimmten Angaben über den Ablauf der Reaction geben:

Gehalt der wässerigen Lösung an Traubenzucker¹⁾ 2%.

ccm NH ₃	10 ^{ccm} Traubenzuckerlösung	
	4,0 ^g Bleizucker	6,0 ^g Bleizucker
2	kurzdauernd gelb, dann roth und rothgelb, später Niederschlag	
3	Grenze; dicker fleischfarbener Niederschlag, gleich rothgelb	
4		
5		gleich roth, dann gelbroth, später Niederschlag
6		" "
7		" "
8		schön roth, dann gelbroth, bald gelbrother Niederschlag
9		Grenze überschritten, schönroth, bald gelbroth

Eine Veränderung in der Farbe des Niederschlags war nicht wahrzunehmen, gleichgiltig ob nur 4 oder 6^g Bleizucker verwendet wurden. Es würden also für einen Gehalt von 2 % Traubenzucker 4,0^g Bleizucker zur Anstellung der Probe vollkommen ausreichen; die Anwendung grösserer Bleizuckermengen hat den Nachtheil, dass dadurch ein Theil des Niederschlags in Lösung gehalten wird, weshalb dann grosse Zusätze von Ammoniak gemacht werden müssen, um die Grenze, d. h. jenen Punkt, bei welchem durch dieses ein eben nicht mehr verschwindender Niederschlag erzeugt wird, zu erreichen.

Als eine 1 proc. Traubenzuckerlösung verwendet wurde, gestalteten sich die Verhältnisse wie folgt:

1) Der Traubenzucker war nach der Methode von H. Schwarz aus Rohrzucker durch Behandeln mit ClH hergestellt und wasserfrei.

ccm NH ₃	10 ^{ccm} Traubenzuckerlösung		
	2,0 ^g Bleizucker	4,0 ^g Bleizucker	6,0 ^g Bleizucker
1	gleich gelb, später gelber Niederschlag		
2	gleich ziegelroth, aber schnell unter Trübung gelb	gleich gelb, kein Niederschlag	
3	Grenze überschritten, dicker, fleischfarb. Niederschlag, bald gelb		
4		gleich roth, dann gelb, kein Niederschlag	sofort gelb, kein Niederschlag
5		gleich roth, bald gelb, gelber Niederschlag	
6		" "	sofort gelb, kein Niederschlag
7		gleich roth, unmittelbar darauf gelb	
8			" "
9		Grenze überschritten, fleischfarbener dicker Niederschlag, dann gelb	sofort gelb, kein Niederschlag

Als das günstigste Verhältniss für 1 proc. Lösung ergab sich also der Zusatz von 2,0^g Bleizucker; man bedarf dann der geringsten Ammoniakzusätze. Je grösser die Bleizuckermenge gegenüber dem vorhandenem Zucker ist, desto mehr muss NH₃ zur Ausfällung zugesetzt werden. Bei 6,0^g Bleizucker konnte durch 9^{ccm} NH₃¹⁾ noch nicht einmal nach dem Kochen ein gelbgefärbter Niederschlag erhalten werden. Man wird aber doch bei Vergleichung der beiden Tabellen finden, dass man innerhalb weiter Grenzen mit dem Bleizuckerzusatz variiren kann. Ein zu grosser Bleizuckerzusatz kann nicht wohl übersehen werden, weil man an

1) Von dem verwendeten Ammoniak entsprachen 1^{ccm} = 0,246^g SO₃.

dem Ausbleiben einer Fällung auf Zusatz von viel Ammoniak sofort erkennt, dass ein Fehler in der Ausführung der Methode vorliegen muss. Unter 1,0^g Bleizuckerzusatz wird man auch bei Lösungen, welche nur 0,1 % Zucker enthalten, nicht herabgehen dürfen. Weiter als bis zu dieser Grenze habe ich die Empfindlichkeit der Probe nicht untersucht; bei geeigneter Verminderung des Bleizuckerzusatzes wird man auch wohl noch kleinere Zuckermengen mit dieser Methode aufzufinden in der Lage sein, als einem Zuckergehalt von 0,1 % entspricht.

Auch dieses Verhalten des Traubenzuckers ist ein nur diesem allein zukommendes. Rohrzucker wie Dextrinlösungen geben in der gleichen Weise behandelt keine Verfärbung. Der Milchzucker gibt allerdings eine Verfärbung, zeigt aber dabei ein so ausserordentlich charakteristisches Verhalten, wie gleich erörtert werden soll, dass eine Verwechslung mit Traubenzucker nicht eintreten kann.

II. Milchzuckerreaction.

Schon bei Ausführung der Traubenzuckerreaction wurde besprochen, dass Milchzucker mit Bleizucker und Ammoniak versetzt und 20—25 Sec. erhitzt keine Veränderung erleidet. Als ich aber Milchzuckerlösungen längere Zeit im Kochen erhielt, änderten sich die Verhältnisse. Concentrirte Milchzuckerlösungen verfärbten sich dabei, werden gelb und indem ein Theil des Milchzuckerbleies sich roth färbt, nimmt die ganze Masse eine Fleischfarbe an; auch eine 1% Milchzuckerlösung färbte sich nach 45 Sec. langem Kochen gelb, und war nach 1 Min. etwas fleischfarben. Eine Lösung von der nämlichen Concentration zeigt selbst nach vielen Tagen nicht die geringste Veränderung, wenn sie nicht oder nur 20—25 Sec. erhitzt wurde. 0,5 % Lösungen wurden nach 40 Sec. Kochens gelb, auch nach 1 Min. hielt sich die gelbe Farbe noch; erst nach längerer Zeit trat ein röthlicher Farbenton hinzu. Bei weiterer Verdünnung bis zu 0,25 % erzeugte 1 Min. langes Kochen keine Farbenveränderung, nach 10 Min. aber trat leichte Verfärbung ein. Dies Verhalten des Milchzuckers liess sich also nur so erklären, dass durch Kochen mit Bleizucker Veränderungen des Milchzuckers erzeugt werden. In der That

kann man sich leicht davon überzeugen, dass Milchzuckerlösungen nach 3—4 Min. langem Kochen mit Bleizucker allein, ohne NH_3 sich verfärben, gelb bis bräunlich, also verändert werden. Wenn man dann in eine derartige mit Bleizucker gekochte Milchzuckerlösung Ammoniak einträufelt, so lange der Niederschlag sich noch löst, so tritt zunächst eine Gelbfärbung der Lösung auf, dann ohne Fällung eine äusserst intensive ziegelrothe Färbung, sodann eine Trübung, Dunkeln der Farbe der Fällung und endlich das Absetzen eines schön kirschroth bis kupferfarben gefärbten pulverigen Niederschlags. Die überstehende Flüssigkeit ist ungefärbt. In den meisten Fällen krystallisiren an den Wandungen des Gefässes kleine, harte, rothgefärbte Krystalle an. Dieses Verhalten gibt uns ein ausserordentlich scharfes Erkennungsmittel für Milchzucker in die Hand. Doch darf dabei nicht ganz willkürlich verfahren werden, wesshalb ich in folgendem in Kürze die Regeln zur Ausführung der Reaction gebe.

Wie bei der Traubenzuckerreaction ist es auch für die Milchzuckerreaction nicht gleichgültig, wie viel Bleizucker verwendet wird.

Für 2,0 % Milchzuckerlösungen fand ich:

ccm NH_3	10 ^{ccm} Milchzucker		
	4 ^g Bleizucker	6 ^g Bleizucker	8 ^g Bleizucker
2	nach dem Kochen gleich gelb, dann roth, später Niederschlag bräunlich		
3	sofort bleibender Niederschlag, fleischfarben, später bräunlich		
4		sofort gelb, dann kirschroth, ebenso Niederschlag	
5		sofort gelb, dann später kirschroth, ebenso Niederschlag	
6		" "	
7		Grenze, kräftig ziegelroth, dann kirschroth	

ccm NH_3	10 ^{ccm} Milchzucker		
	4 ^g Bleizucker	6 ^g Bleizucker	8 ^g Bleizucker
8			gleich gelb, dann roth, kupferfarbener Niederschlag
9			" "
10			" "
11			" "
12			gelb, dann prachtvoll ziegel-, dann kirschroth, ebenso Niederschlag
13			Grenze, prachtvoll ziegelroth, dann kirschroth

Während also die Traubenzuckerreaction 2 sich gegen die grossen Bleizuckerzusätze nicht sehr empfindlich zeigte, können wir hier bei dem Milchzucker ganz bestimmt das Optimum der Reaction auf 8^g Bleizuckerzusatz verlegen. Zu geringe Zusätze lassen namentlich die Niederschläge schmutzigbraun erscheinen. Grosse Zusätze haben, wie ich aus anderen Erfahrungen schliesse, den Nachtheil, dass auch ausserordentlich grosse Mengen von NH_3 gemacht werden müssen, ehe die Ausfällung eines bleibenden Niederschlags auftritt. Zur Erreichung dieses Endpunktes wird bei Traubenzuckerlösungen weit mehr NH_3 verbraucht als bei den Milchzuckerlösungen. Eine Bestätigung der eben aufgestellten Sätze gab eine Versuchsreihe mit einer 1 % Milchzuckerlösung.

ccm NH_3	10 ^{ccm} Milchzuckerlösung		
	2,0 ^g Bleizucker	4,0 ^g Bleizucker	6,0 ^g Bleizucker
1	bald gelb dann gelbbraun		
2	Grenze überschritten, fleischfarbene Fällung.	gleich gelb, dann Uebergang in roth, kein Niederschlag	
3			

ccm NH ₃	10 ^{ccm} Milchzuckerlösung		
	2,0 ^g Bleizucker	4,0 ^g Bleizucker	6,0 ^g Bleizucker
4		gelb, dann roth, ziegelfarb. rother Niederschlag	
5		gelb, dann ziegelroth, endl. bordeauxroth, Niederschl. ebenso	
6		Grenze, fleischfarb. dicker Niederschlag	
7			gelb, dann roth, kein Niederschlag
8			gelb, dann roth, bordeauxroth beginnender Niederschlag
9			ebenso; Grenze noch nicht erreicht

Auch hier ergibt zu geringer Bleizuckerzusatz gelbbraun gefärbte Niederschläge, das Optimum liegt bei 4,0^g Bleizucker; bei 6,0^g Bleizucker konnte auch nach Zugabe von 9^{ccm} NH₃ noch keine Fällung erreicht werden.

Geht man zu ganz verdünnten Lösungen z. B. 0,1 % über, so erkennt man meistens bei beginnender Einwirkung von Bleizucker und Ammoniak nur einen schwachen gelben Schimmer; der Niederschlag setzt sich anfangs flockig ab, legt sich aber bei einigem Stehen fest aneinander und wird roth. Bei 0,1 % kann man sowohl mit 0,5 als 1,0^g Bleizucker pro 10^{ccm} Flüssigkeit die Reaction erhalten, doch ist es empfehlenswerth, bei geringer Concentration nicht Bleizucker in Substanz, sondern besser ein paar Tropfen einer Lösung zuzusetzen. Je verdünnter die Lösung, desto kräftiger muss mit Bleizucker gekocht werden. Bei 0,05 und 0,02 % Milchzucker erhielt ich noch ein positives Resultat. Geringere Concentrationen noch nachzuweisen, könnte man vielleicht durch Anwendung geeigneter Modificationen erreichen, wenigstens scheint mir das Verhalten von milchzuckerhaltigem Harn darauf hinzudeuten.

Trotzdem nun für eine bestimmte Concentration an Zucker ein bestimmter Zusatz von Bleizucker gemacht werden soll, um die

kräftigste Reaction zu erhalten, so wird man bei Untersuchung von Lösungen unbekanntes Gehaltes doch leicht zum Ziele gelangen; an der schmutzigbraunen Fällung erkannte man leicht, dass zu wenig Bleizucker zugesetzt ist, ebenso an der Unmöglichkeit mit NH₃ eine Fällung zu erzeugen und an dem zu reichlichen Zusatz von Bleizucker. Man kann dann in einer zweiten Probe schon der richtigen Bleizuckermenge so nahe kommen, dass ein bestimmter Entscheid über die Qualität des vorliegenden Zuckers abgegeben werden kann.

III. Ueber den Zuckernachweis im Harn.

Ich glaube, dass die vorliegenden Bleizuckerreactionen für viele Zwecke Verwendung finden können. Allein es war mir doch nahelegend, den speciell physiologischen Gesichtspunkt herauszugreifen und mit Rücksicht auf ihn die Brauchbarkeit der genannten Methoden zu prüfen. So schien es mir namentlich von Interesse zu sein, die Milch- und Traubenzuckerreactionen für den Harn handbar zu machen, weil der Nachweis in diesem Exkrete am häufigsten zur Anwendung kommen wird.

Die erste und wichtigste Frage, welche erörtert werden muss, ist: wie sich denn der normale Harn zu der behufs Nachweises des Zuckers mittelst Bleizuckers nöthigen Behandlung verhalte? In etwa 20 Fällen normaler Harnproben, bei deren Untersuchung mit peinlicher Sorgfalt geradeso verfahren wurde, als ob auf Zucker zu prüfen gewesen wäre, erhielt ich stets negative Resultate, d. h. der Niederschlag, welcher nach dem Kochen mit Bleizucker und Ammoniak, oder nach dem Zusatz von Ammoniak zu einer vorher mit Bleizucker gekochten Lösung sich absetzte, war völlig farblos, oder schwach schwefelgelb gefärbt. Nur in jenen Harnen, welche vorher mit Bleizucker gekocht waren, setzte sich in manchen Fällen, nachdem sich der erste farblose oder schwachschwefelgelbe Niederschlag schon abgesetzt hatte, ein rothbraunes Pulver ab. Dasselbe kann niemals mit der Probe auf Traubenzucker nach Methode I, oder mit dem Milchzuckerniederschlag verwechselt werden; auch mit dem Traubenzuckernachweis nach Methode II und bei sehr kleinen Mengen (etwa unter 0,1 %) ist nicht wohl eine Verwechslung zu befürchten, wenn man mit der Genauigkeit der Probe nicht

weiter gehen will als ich für dieselbe angeben werde, nämlich bis 0,1 %. Obschon nun die Bleizuckerproben im Harn negative Resultate geben, so erleiden dieselben doch in zuckerhaltigen Harnen gewisse Veränderungen gegenüber den Erscheinungen in wässrigen Zuckerlösungen, so dass eine gesonderte Besprechung der einzelnen Methoden nicht umgangen werden kann.

Vor allem stört im Harne der reichliche Niederschlag, welcher schon bei Zusatz von Bleizucker allein auftritt; man kann diesen störenden Niederschlag entweder gleich abfiltriren, und — falls nicht schon mit einem bedeutenden Ueberschuss an Bleizucker gefällt wurde — dann dem Filtrate nochmals etwas Bleizucker hinzufügen, oder man kann zuerst mit essigsauerm Eisen kochen und dann das wasserklare Filtrat erst mit Bleizucker versetzen.

Durch das essigsaurer Eisen werden annähernd die gleichen Stoffe gefällt, wie durch Bleiacetat; denn wenn der Harn auf die erstere Weise behandelt worden ist, so bemerkt man, dass auf Bleizuckerzusatz nur eine geringe, fast verschwindende Fällung sich ausbildet. Man könnte daher daran denken, erst mit essigsauerm Eisen zu fällen und dann dem Filtrate recht sorgfältig Bleizucker zuzusetzen; ich habe aber durch vergleichende Proben gefunden, dass die Bleizuckerfällung der Fällung mit essigsauerm Eisen vorzuziehen ist.

Die einzelnen Bleizuckerreactionen sind nicht alle gleich scharf im Harne wie in wässrigen Flüssigkeiten; recht auffallender Weise ist der Nachweis ganz geringer Milchzuckermengen im Harne sogar leichter als in wässriger Lösung.

Was die Genauigkeit der ersten Traubenzuckermethode anlangt, so wäre folgendes darüber zu sagen: In einer grösseren Anzahl von Fällen konnte ich feststellen, dass ein Gehalt von 0,1 % noch erkennbar ist. Darüber hinaus werden die Resultate unsicher, obschon ich in einigen Fällen bei geringerem Gehalt als 0,1 % den Traubenzucker habe erkennen können. Die Empfindlichkeit ist also gegenüber der Prüfung mit Fehling'scher Lösung nach den Angaben von Worm-Müller schwächer, denn nach dessen Angaben kann man 0,05—0,025 % ¹⁾ Traubenzucker im Harn erkennen.

1) Archiv für die ges. Physiologie Bd. 27 p. 101.

Doch muss man fest halten, dass die Worm-Müller'sche Reaction keine Traubenzuckerreaction ist, sondern Traubenzucker, Milchzucker oder Dextrin angibt. Die einzige Traubenzuckermethode, welche für den Harn bisher vorlag, ist die Barfö'd'sche, welche aber erst über 0,5 % Zucker anzugeben vermag ¹⁾. Dieser gegenüber ist also die Bleizuckerprobe ganz entschieden vorzuziehen.

Zur Ausführung der zweiten Traubenzuckermethode, welche darin besteht, dass man die Lösung zuerst mit Bleizucker kocht, dann filtrirt, wieder erhitzt und in die kochende Flüssigkeit Ammoniak bis zu eben bleibender Trübung eingiesst, setzt man auf je 10^{cem} Harn 3,0% Bleizucker zu. Ich kann hier nur nochmals wiederholen, dass kräftig gekocht werden muss und dass das Ammoniak in die heisse Flüssigkeit eingeträufelt werden soll. Harne von etwa 1010 spec. Gewicht können unmittelbar zur Probe benützt werden, concentrirte sind zweckmässiger Weise erst mit dem gleichen Volum Wasser zu verdünnen.

Die Empfindlichkeit dieser Methode geht gleichfalls wie die der vorhergenannten (wenn man nicht zu umständlich verfahren will) bis 0,1 %; zwar kommen Fälle vor, in denen Harne von 1024 spec. Gewicht 0,07 % Traubenzucker noch erkennen liessen, obschon ich in derartigen Fällen stets mit dem gleichen Volum Wasser verdünnt hatte, also die Concentration eigentlich nur 0,035 % betrug. Bei richtiger Ausführung der Methode wird es nicht schwer werden 0,1 % Traubenzuckergehalt festzustellen.

Wie in wässrigen Lösungen, so erkennt man auch beim Harn, dass die Flüssigkeit beim Einfließenlassen des NH₃ zunächst etwas gelb wird; je nach dem Gehalte an Zucker färbt sich dann die Flüssigkeit roth oder es scheinen nur die ausfallenden Flocken roth zu sein. Als bald blasst das Roth ab, die an Bleioxyd erinnernde Farbe tritt auf. Der Zusatz von Ammoniak sei ziemlich kräftig, weil einige Harnbestandtheile mit Bleizucker und Ammoniak rascher ausfallen als das Zuckerblei. ²⁾ Enthält der Harn reichlich Zucker

1) Hofmeister, Zeitschrift für physiol. Chemie Bd. I p. 110.

2) Milchzuckerblei fällt leichter als Traubenzuckerblei; aber der Traubenzuckerniederschlag senkt sich rascher als der Milchzuckerniederschlag.

z. B. 0,3 oder 0,2 %, so fällt der Niederschlag meist in dicken, käsigen Flocken heraus. Bei 0,1 % kann er auch in käsigen Flocken herausfallen, in der Regel aber legen sich die Flocken dicht aneinander, so dass man mehr den Eindruck einer pulverigen Fällung hat.

Bezüglich des Vergleichs der Empfindlichkeit dieser Methode mit anderen kann das auf Seite 400 Gesagte gelten; sie ist weniger scharf als die Worm-Müller'sche Reaction, aber weit schärfer als die Barföd'sche; Concentrationen unter 0,2 % dürften aber auch kaum von praktischem Interesse sein.

Eine weit farbenprächtigere Reaction als die beiden Traubenzuckerreactionen ist die Milchezuckerreaction. Auch zum Nachweise des Milchezuckers im Harn ist es nöthig, die mit Blei fällbaren Substanzen zuerst zu entfernen, wobei man die gleichen Verhältnisse wie beim Traubenzuckernachweis II einhalten kann. Auf je 10^{ccm} Flüssigkeit sind 3,0^s Bleizucker zuzusetzen; Harne über 1020 spec. Gewicht werden erst verdünnt. Die Flüssigkeit muss kräftig gekocht werden und in die siedend heisse Lösung Ammoniak eingetragen werden. Die Milchezuckerreaction gibt im Harn bei geringeren Concentrationen noch positivere Resultate als die in wässerigen Lösungen.¹⁾

Schon beim Eintropfen des NH₃ in den siedenden Harn kann man selbst bei 0,1 % Gehalt eine leichte Gelbfärbung bemerken; alsbald nimmt die ganze Flüssigkeit eine schön rosaroth Farbe an und ebenso gefärbte Flocken setzen sich ab. Später kann der Niederschlag sich absetzen, pulverig werden und Kupferfarbe annehmen. Die Probe ist sehr empfindlich und stellt sich über die bis jetzt für die empfindlichsten gehaltenen, z. B. die Worm-Müller'sche. Letztere hört in Milchezuckerlösungen bei 0,05 % auf, zuverlässig zu sein. Ein Gehalt von 0,05 % wird mit der Bleizuckerprobe aber nicht wohl dem Nachweise entgehen, wenn man nur genau die von mir angegebenen Regeln befolgt. Ich habe sogar unter gar nicht gün-

1) Die wässerigen Lösungen waren mit aschefreiem Trauben- und Milchezucker hergestellt. Es ist möglich, dass durch einen mässigen Salzgehalt der Lösungen die Reactionen empfindlicher werden.

stigen Verhältnissen noch unter 0,05 % positive Resultate erhalten; es darf wohl hier nochmals angefügt werden, dass normaler Harn nicht im Entferntesten eine ähnliche Reaction gibt.

Ein Harn von 1024 spec. Gewicht gab

bei 0,39 % Milchezucker prächtige Reaction

0,15 % „ „ „

0,07 % „ deutlichste Reaction,

0,035 % deutliche Reaction; Worm-Müller negativ.

Da nun die Harne zur Ausführung der Probe auf das Doppelte verdünnt waren, so sind die Concentrationen eigentlich nur halb so gross gewesen, nämlich im äussersten Falle = 0,017 %. — Dessgleichen habe ich bei einem Harn von 1010 spec. Gewicht

bei 0,1 % prächtige Reaction

0,05 % deutliche „

0,02 % Reaction (aber schwache) erhalten.

Bei 0,01 % trat ein nicht charakteristischer schwefelgelber Niederschlag, wie ihn normaler Harn auch gibt, auf.

Mit der angegebenen Milchezuckerreaction bietet sich namentlich dem Gynäkologen ein leichtes Mittel, den Harn auf Milchezucker zu prüfen und zwar glaube ich, dass dem auch völlig Ungeübten der Nachweis von 0,1 % Milchezucker nicht schwer werden dürfte; während bisher der Nachweis von Milchezucker im Harn der Wöchnerinnen ein sehr schwieriger und umständlicher war, auch wohl nur von Hofmeister und Kaltenbach exakt ausgeführt wurde, kann mit Hilfe der vorliegenden Reaction demselben keine weitere Schwierigkeit entgegenstehen.¹⁾

1) Die Untersuchung der Niederschläge dieser Reactionen behalte ich mir vor.