

Р

60

7 - НОЯ 2012

КЪ ОЦѢНКЪ

КЛИНИЧЕСКИХЪ МЕТОДОВЪ

КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДѢЛЕНІЯ САХАРА ВЪ КРОВИ.

Изъ клиники при кафедрѣ общей терапіи и діагностики внутреннихъ болѣзней проф.-акад. М. В. Яновскаго и лабораторіи при кафедрѣ физиологической химіи ординарнаго профессора М. Д. Ильина при ИМПЕРАТОРСКОЙ Военно-Медицинской Академіи.



ДИССЕРТАЦІЯ
НА СТЕПЕНЬ ДОКТОРА МЕДИЦИНЫ
А. М. РУМШЪ.

Цензорами диссертациі по порученію Конференціи Академіи были: Заслуженный Ординарній Профессоръ, Академикъ М. В. Яновскій Ординарній Профессоръ М. Д. Ильинъ и Приватъ-Доцентъ Э. А. Гранстремъ.



С.-ПЕТЕРБУРГЪ
Тип. 3. Соколинскаго Надеждинская, 33
1914 г.

66739A

7-100 2072

БИБЛИОТЕКА
Кафедры Общей Гистологии
и Харьковского Медицинского И с т

**КЪ ОЦѢНКѢ
КЛИНИЧЕСКИХЪ МЕТОДОВЪ
КОЛИЧЕСТВЕННАГО ОПРЕДѢЛЕНІЯ САХАРА ВЪ КРОВИ.**

Изъ клиники при кафедрѣ общей терапіи и діагностики внутреннихъ болѣзней
проф.-акад. М. В. Яновскаго и лабораторіи при кафедрѣ физиологической
химіи ординарнаго профессора М. Д. Ильина
при ИМПЕРАТОРСКОЙ Военно-Медицинской Академіи.



ДИССЕРТАЦІЯ
НА СТЕПЕНЬ ДОКТОРА МЕДИЦИНЫ
А. М. РУМШЬ.

Цензорами диссертации по порученію Конференціи Академіи
были: Заслуженный Ординарный Профессоръ, Академикъ М. В. Яновскій,
Ординарный Профессоръ М. Д. Ильинъ и Приватъ-Доцентъ Э. А. Гранстремъ.

Перуучет
1906 г.

С.-ПЕТЕРБУРГЪ.
Тип. 3. Соколинскаго Надеждинская, 33.
1914 г.



Харьковский
1914

Переучет-60

Докторскую диссертацию врача Румишъ Александра Михайловича под заглавием «Къ оцѣнкѣ клиническихъ методовъ количественнаго опредѣленія сахара въ крови» печатать, разбивается, но съ тѣмъ, чтобы по отпечатаніи было представлено въ ИМПЕРАТОРСКУЮ Военно-медицинскую академию 500 экземпляровъ ея и 100 сброшюрованныхъ вмѣстѣ съ заглавнымъ листомъ диссертации экземпляровъ: 1) curriculum vitae автора диссертации, 2) аутоферата ея, 3) выводовъ изъ диссертации (резюмэ) и 4) положений (theses), при чемъ 175 экземпляровъ диссертации и всѣ 100 брошюръ должны быть доставлены въ канцелярію конференціи академіи, а остальные 325 экземпляровъ диссертации — въ бібліотеку академіи.

Внѣшній форматъ для диссертаций установлень 275×180 миллим. (послѣ обрѣза), площадь печатнаго текста — 185×112.

С.-Петербургъ. 30 апрѣля 1914 года № 59.

Ученый секретарь,

Профессоръ М. Ливинъ.



Количественное опредѣленіе сахара въ крови для клин-ники, особенно въ терапіи діабета, имѣетъ существенное значе-ніе. И если до послѣдняго времени эти изслѣдованія произво-дились сравнительно рѣдко, то это обстоятельство объясняется сложностью господствовавшихъ способовъ опредѣленія и тре-бованіемъ для нихъ большихъ количествъ крови, но отнюдь не говорить противъ важности и необходимости ихъ.

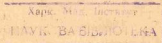
Прежде всего опредѣленіе количества сахара въ крови важно въ діагностическомъ отношеніи.

Постоянно повышенное содержаніе сахара въ крови будетъ свидѣтельствовать о наличіи діабета, хотя бы оно и не сопро-вождалось глюкозурией (скрытый діабетъ).

Пониженное содержаніе сахара настолько часто встрѣ-чается при Аддисоновой болѣзни, что вѣроятно будетъ счита-ться однимъ изъ діагностическихъ признаковъ ея.

Безусловно необходимымъ это изслѣдованіе является при почечномъ діабетѣ, гдѣ глюкозурия является не слѣдствіемъ повышеннаго содержанія сахара въ крови, а слѣдствіемъ по-вышенной проницаемости почекъ. Далѣе, такъ какъ съ дальнѣйшимъ теченіемъ діабета повышается уровень содер-жанія сахара, то и въ этомъ отношеніи изслѣдованіе крови можетъ дать важныя указанія.

Для терапіи и прогноза опредѣленіе количества сахара въ крови также даетъ руководящую точку зрѣнія: ясно, что, разъ отсутствіе сахара въ мочѣ не идентично нормальному содер-жанію сахара въ крови, слѣдуетъ при леченіи стремиться до-стигнуть послѣднее, а не ограничиваться первымъ. Съ другой стороны, если въ нѣкоторыхъ случаяхъ діабета можно дости-гнуть нормальнаго уровня въ крови сахара, то ясно, что такіе случаи должны трактоваться какъ болѣе легкіе по сравненію съ тѣми, гдѣ нормальнаго содержанія сахара въ крови до-стигнуть не удастся.



Далѣе, увеличение сахара въ крови съ одновременнымъ уменьшеніемъ въ мочѣ позволяетъ предвидѣть наступленіе диабетической комы и, слѣдовательно, заблаговременно принять соответствующія мѣры.

Наконецъ, слѣдуетъ прибавить, что путемъ сравнительныхъ опредѣленій сахара въ крови и мочѣ, можно получить важнаа даннаа о функциональной дѣятельности почекъ.

Сказаннымъ, конечно, не исчерпывается все значеніе приложенія этого метода изслѣдованія, съ дальнѣйшимъ распространеніемъ его выяснятся новія точки зрѣнія, тѣмъ болѣе, что физиологическая и патологическая кровяная сахара, его объѣма все еще не выяснены съ той полнотой, которая была бы желательна.

Колебанія количества сахара въ крови при физиологическихъ и патологическихъ условіяхъ.

Содержаніе сахара въ нормальной крови не представляетъ постоянной величины, но колеблется въ зависимости отъ различныхъ условій.

Физиологическія границы этихъ колебаній лежатъ между 0,07—0,11 (Bang), слѣдовательно въ среднемъ размѣрѣ нормальнаму содержанию сахара въ крови соответствуетъ 0,09%. Содержаніе сахара въ 0,12% будетъ относиться къ гиперглюкемическимъ, а въ 0,06%—къ гипоглюкемическимъ величинамъ.

Кромѣ винограднаго сахара, въ крови содержатся еще другія редуцирующія вещества: фруктоза, мальтоза, изомальтоза, декстриноподобнаа вещества, гликогены, пентоза, глюкуроновая кислота, мочеваа к-та, креатининъ, урохромъ, лецитинглюкоза, іекоринъ.

Изъ нихъ по своему количеству наибольшее значеніе имѣютъ декстриноподобнаа вещества. Остальнаа вещества находятся въ видѣ слѣдовъ, а существованіе изъ которыхъ изъ нихъ даже сомнительно, какъ напримѣръ, іекорина и лецитинглюкозы, которые, повидимому являются искусственными продуктами, получающимися вслѣдствіе различныхъ химическихъ процедуръ (экстракцій, стущенія и пр.) изъ глюкозы, а не находятся въ таковамъ уже видѣ въ крови.

Кромѣ свободнаго, прямо опредѣляемаго винограднаго сахара въ крови находится еще сахаръ, связаннаа съ различными составными частями крови, опредѣляемый только послѣ нарушенія этой связи. Этотъ сахаръ Lépine называетъ скрытымъ сахаромъ, (sugre virtuel). Слѣдовательно подъ это опре-

деление подходит всё виды не прямо определяемого сахара, т. е. декстриноподобная соединения, соединения с глюконовой кислотой, гликоген и пр.

Имеется ли сахар в соединении с белком, на чем особенно настаивает Lérine, — трудно сказать. Во всяком случае количество глюкозы, находящейся в соединении с белком, ничтожно (0,02%), как показывают определения самого Lérine.

Во этом Bang и усматривает причину неодинаковости результатов у различных авторов, тем более, что применяемые методы определения сахара не были одинаковы (Lérine например пользовался редукционным методом, а Michaelis и Rona поляризационным — а эти методы не вводят равноценны).

Что касается распределения сахара в крови, то в этом отношении существует значительное разногласие. С одной стороны ученика Bang'a: Lyttkens, Sandgren, а также Schirosauer высказываются в том смысле, что в кровяных тельцах глюкозы не находится, так как редукцирующие вещества кровяных тельцев не способны к брожению, но с другой стороны исследования Lérine и Boulud, Hollinger'a, Michaelis и Rona, Frank'a и Bretschneider'a, Forschebach'a и Severin'a, Höber'a и др. показывают, что сахар, кроме плазмы, содержится и в кровяных тельцах, причем содержание сахара в них не идет параллельно с содержанием сахара в плазме: так, при адrenaльной гипергликемии количество сахара в кровяных тельцах нарастает очень мало (Höber R., Frank и Bretschneider), наоборот сильнее нарастает при повышении в (Rolly и Orrepmann). Поэтому же содержание сахара в кровяной плазме не настолько превышает количество сахара в цылой крови, насколько оно должно было бы превышать при допущении, что в кровяных тельцах сахара не содержится. Так, например Frank получил в 15 исследованиях для цылой человеческой крови содержание сахара 0,12% а для плазмы 0,14%. Если бы сахар содержался только в плазме, то согласно найденным числам, объем кровяных тельцев должен был бы равняться 16%, тогда как по исследованиям Nagel'a объем кровяных тельцев равняется 42%—48%.

Наконец Frank в 4 случаях, Rona и Böbbin в 1 случае нашли, что общая цылая кровь была богаче сахаром

плазмы. Основываясь на этом различии содержания сахара в плазме и кровяных тельцах Rolly и Orrepmann выставляют положение, что ограничиться определением сахара в цылой крови или в плазме нельзя, нужно определять и то, и другое.

Итак содержание сахара в крови не имеет постоянного, строго определенного уровня, но колеблется, правда в небольших размерах, в зависимости от различных физиологических условий. Прежде всего количество сахара повышается при приеме углеводов. Это повышение у здоровых людей не велико: после приема виноградного сахара количество сахара в крови увеличивается на 10%—30% против первоначальной, даже при дозах, превышающих границу ассимиляции, при которых наблюдается уже выделение сахара мочой, оно увеличивается на 100%. Еще меньшее повышение сахара наблюдается при крахмалистой пище (10%—20%). Повышение в обоих случаях сахара в крови начинается через 1/2 часа после приема пищи и держится около 2 часов.

Далее, на количество сахара в крови имеет влияние работа, причем при интенсивной мышечной работе происходит большая потеря сахара кровью, чем доставляется сахара из запасных деп: так Weiland у людей в 6 опытах после 25—30 минутной работы на Гертериевском эргографе получить в среднем 0,065%, тогда как перед работой содержание сахара равнялось 0,09%. Но можно думать, что небольшая работа повышает количество сахара в крови; так Liefmann и Stern доказали, что уже небольшие движения вызывают повышение количества сахара. Затем оказывают влияние температура и психическая волнения. Известны многочисленные случаи гипергликемии у людей, подвергшихся рязкому охлаждению (утепление, замерзание), а экспериментально доказано повышение содержания сахара в крови у теплокровных животных в зависимости от охлаждения. Точно также описаны многочисленные случаи непродолжительной гипергликемии у людей под влиянием испуга, гнева, и т. п. состояний психического возбуждения. Быть может, в этой категории следует отнести и случаи гипероперационной гипергликемии. Иско, что при этом должно быть и повышение содержания сахара в крови, так как гипергликемия является уже следствием его.

Возраст, пол, беременность и период лактации у людей не влекут за собой изменений в количествах сахара.

Во все эти условия, так незначительно влияющие на содержание сахара в крови здоровых людей, при различных патологических условиях, особенно при диабете, являются чрезвычайно важным моментом, резко влияющим на количество сахара в крови. Так при диабете, даже при легких формах, прием виноградного сахара в дозе, не превышающей границу усвоения для здорового человека, вызывает увеличение сахара в крови на 200%—250% (Gilbert и Boudoin). Даже безуглеводистая пища вызывает у них повышение содержания сахара на 20%—100% по Rollu и Orgermannu, на 20%—60% по Bang'u. Точно также влияют при диабете и все остальные моменты, вызывающие увеличение сахара в крови у здоровых людей.

Что касается вообще содержания сахара в крови диабетиков, то оно у различных больных, колеблется от 0,12% и до 1,0%, обычно же между 0,12%—0,5%.

Уже Lehman и St. Bernard, установивши, что гипергликемия является причиной глюкозурии, считали, что порогом содержания сахара в крови является 0,3%, при превышении которого гипергликемия сопровождается глюкозурией, и что с дальнейшим повышением сахара в крови повышается и количество выделяемого сахара. Как бы общее правило, остается это положение вверным и до сих пор, но что касается абсолютной, фиксированной или величины порога сахара в крови, то она не соответствует действительной, т. е. глюкозурия может быть при диабете при любых количествах сахара в крови, начиная от 0,12%.

Даже вопреки этому положению часто наблюдается несоответствие между содержанием сахара в крови и мочи. С одной стороны при диабетической мочи количество сахара в крови увеличивается обычно до 0,4%—0,5%, а иногда даже до 1%, в мочи же одновременно падает. С другой стороны при одном и том же содержании сахара в крови выделение сахара мочой может происходить в неодинаковом количестве и даже совсем отсутствовать (скрытый диабет). Так например Liefmann и Stern приводят 8 случаев диабета, в которых при содержании сахара в крови от 0,12% до 0,19% глюкозурия не было, Weiland—6 случаев содер-

жания сахара в крови от 0,13%—23%. Возможны наконец и случаи больших выделений сахара в мочи при небольшом, только слегка повышенном содержании его в крови, напр. Nishuu проводит случай диабета с содержанием в крови 0,14% сахара, а в мочи в 3,5%.

Объяснение этих противоречивых находок могут отчасти исследования Liefmann'a и Stern'a о связи уровня кривой содержания в крови сахара с продолжительностью заболевания.

Продолжительность диабета	Содержание сахара в крови
10—15 лет	0,15%—0,22%
1—5 „	0,15%—0,19%
1—3 „	0,14
меньше года	0,10%—0,15

Из этой связи они выводят то заключение, что почка с дальнейшим течением диабета устанавливается на более высокую концентрацию сахара в крови, и что для начальных стадий диабета правильно должна явиться глюкозурия без заметной гипергликемии; но для объяснения случаев скрытого диабета одной этой причины мало, необходимо, чтобы и образование сахара при этом было установлено на ту же концентрацию сахара (Vand). Иначе, если бы не было этого равновесия, то количество сахара продолжало бы увеличиваться до тех пор, пока не превалило предель непродуктивности почки, и обязательно вызвало бы глюкозурию. Таким образом и при диабете устанавливается равновесие между продукцией сахара и концентрацией в крови, но это равновесие, как было выше указано, очень неустойчиво. Интересно также отметить различное отношение сахара крови и мочевой сахара: при долго продолжающемся исключении из пищи углеводов мочевой сахар исчезает раньше, чем количество сахара в крови станет нормальным.

Изучение глюкозурии при различных экспериментальных вмешательствах, кроме своего непосредственного значения для выяснения сущности диабета, объяснено попутно механизмом глюкозурии при различных заболеваниях, помимо диабета, и послужило толчком к изучению колебаний сахара в крови при этих заболеваниях.

Так, при заболеваниях мозга, связанных с каким-либо механическим моментом (как то геморрагия, сотря-

сени, опухоли мозга) может встречаться повышение сахара до 0,2—0,3% (Hollinger), но обычно меньше 0,129—0,138 (Rolly и Oppermann); при заболевании нервов, особенно при воспалении спинного мозга, часто, но не всегда бывает, повышение содержания сахара в крови, так Frank в одном случае нашел 0,2%, обычно же значительно меньше, немного отличаюсь от нормальной величины.

При лихорадочных заболеваниях часто наблюдается гипергликемия она в среднем равняется 0,12% (из 13 случаев собранных Bang'ом), наивысшее колебание при этом равняется 0,17%, а по Rolly и Oppermannу 0,128%; из лихорадочных заболеваний наибольшее содержание сахара отмечается при крупозном воспалении легкого, где оно может достигать, насколько можно судить из собранных Bang'ом 28 случаев, 0,22%, в среднем же 0,15%.

Очевидно, при ней к токсическим и термическим влияниям, вызывающим вообще повышение сахара при лихорадочных заболеваниях, присоединяется и большая степень ацидоза, обуславливаемая местом поражения.

При сильных степенях анемии, скорбуть гипергликемия наблюдается (Rolly и Oppermann) до 0,12% очевидно она также отчетли объясняется ацидозом, какое объяснение обычно прилагается для гипергликемии при пороках сердца, миокардитах, бронхиальной астме и прочих, не лихорадочных, но связанных с одышкой, заболеваниях, при которых Bang'ом отмечено повышение до 0,19% обычно же оно не превышает 0,14%. Но, быть может, при этих заболеваниях иметь изъяснительное значение и токсическая влияния, подобно экспериментально вызываемым гипергликемиям при помощи различных отравлений. Это же объяснение относится к часто встречающемуся повышению количества сахара при раке, где оно по Freund'у может достигать даже до 0,33%. Что же касается нефрита, то данная изследования крови очень разнообразны, с одной стороны главным образом Neubauer находить повышение сахара в крови до 0,21% и ставит его в связь с повышением кровного давления—оба же эти явления по его мнению зависят от адреналина, обусловленной гипертрофией хромозомного вещества. Но большинство исследователей не могли подтвердить этих данных.

При Базедовой болезни, акромегалии, катаральной желтухе гипергликемия обычно не бывает; что же касается хронических заболеваний печени, то она при них может встречаться по Bang'у, но не достигает значительной величины, согласно же Rolly и Oppermannу она и при хронических заболеваниях бывает только, когда имеется на лицо какое либо осложнение, обуславливающее повышение количества сахара (рак, лихорадка, кома). При всех этих заболеваниях пищевая гипергликемия бывает значительно сильнее выраженной, чем при нормальных условиях, хотя бы на тонцах, повышения содержания сахара и не было: она часто при этих заболеваниях достигает 100%. Только при нефритах подобная зависимость не всегда наблюдается (Bang).

Что касается до уменьшенного по сравнению с нормой содержания сахара, то оно, помимо экспериментального изъяснения печени и надпочечников, видимо, является постоянно спутником Аддисоновой болезни, при которой только редко встречается нормальное содержание сахара, да и то на низких числах его. Именно Schirokaer 2 раза получил 0,07% и 0,08%, Bernstein в одном случае 0,08%, Oppermann в одном случае 0,079% обычно же—3 случая Bernstein, 5—Forschbach и Severin, 3—Porges'a была находима гипогликемия. Поэтому Porges считает ее одним из признаков Аддисоновой болезни, к чему Rolly и Oppermann добавляют, что гипогликемия при Аддисоновой болезни будет тогда на лицо, когда процесс уже стал значительным и, если при этом не имеется на лицо осложнений какиих либо интоксикационных или инфекционных моментов, являющихся возбудителем гипергликемии.

Наконец, открытие флюридиновой глюкозурии указало на возможность существования так называемого почечного диабета, глюкозурии при котором зависит не от повышенного содержания сахара в крови, а от повышенной проницаемости почечного фильтра.

Предель концентрация сахара в крови, при превышении которого наблюдается глюкозурия, как уже выше было указано, не одинаков даже у одного и того же человека. Это различие обуславливается активной способностью почечки не пропускать сахар в мочу, но абсолютной проницаемости

нать так как и у здоровых людей моча содержит следы сахара. Флоридинг и ему подобные яды парализуют эту способность почечек. Следовательно, возможно, что и другие моменты в состоянии вызвать подобную глюкозурию, и прежде всего здесь приходится подумать о воспалении почечек тъмъ бѣлье, что уратовая соли, кантаридинъ и т. п. яды, обуславливающие появление глюкозурии, вместе съ тъмъ, часто вызывают и воспаление почечек, но нужно при этомъ замѣтить, что глюкозурической эффектъ дѣйствія этихъ ядовъ не идетъ параллельно съ альбуминурическими. Итакъ, теоретически разсуждая, можно мыслить почечное происхождение нѣкоторыхъ случаевъ диабета. Поэтому случаи глюкозурии, при нормальномъ содержаніи сахара въ крови, можно объяснять повышенной проницаемостью почечной ткани (истинный почечный диабетъ), причемъ нормальное содержаніе сахара въ крови, несмотря на потерю его мочей, поддерживается усиленнымъ новообразованиемъ сахара.

Но съ другой стороны измѣняющаяся глюкозурию при нормальной концентрации сахара въ крови можно объяснить все-таки повышенной продукціей сахара, причемъ отсутствие гиперглюкемии въ этихъ случаяхъ объясняется тъмъ, что почки сразу же выделяютъ избыточно образованный сахаръ, и т. о. происходитъ глюкозурия при нормальномъ содержаніи сахара въ крови. Возможность подобнаго механизма вытекаетъ изъ часто встрѣвавшихся глюкозурий при ничтожномъ повышеніи сахара въ крови. Подобныя глюкозурии у Noordenъ считаютъ даже характерными для начальной стадіи спонтаннаго истиннаго диабета. А разница между ними только количественная, переходъ небольшой.

Lieffmann'у и Stern'у дѣйствительно удалось даже наблюдать пищевую глюкозурию при отсутствіи гиперглюкемии. Кодабетомъ, подобныя глюкозурии не могутъ считаться почечнымъ диабетомъ. Изъ сказаннаго яснымъ становится, насколько трудна дифференціальная диагностика между ними.

Lithje поэтому установилъ требованія, необходимыя для diagnosa почечнаго диабета.

1) Сахаръ въ крови не долженъ находиться въ увеличенномъ количествѣ, скорѣе въ уменьшенномъ.

2) Глюкозурия не должна зависеть отъ количества принимаемыхъ углеводовъ.

3) Глюкозурия должна отсутствовать передъ почечнымъ заболѣваніемъ и появиться только послѣ таковаго.

Къ этимъ условіямъ Tschau прибавилъ еще новое, именно что почечный диабетикъ не долженъ реагировать на пріемъ углеводовъ увеличеніемъ въ крови количества сахара.

Случай почечнаго диабета описанъ впервые Klemperger'омъ, затѣмъ появились описанія Kolisch'a и Buber'a, Bönninger'a; Lithje, Tschau, Welland'a, Lepin'a и Salomon'a.

Уже изъ этихъ наблюдений выяснилось, что часто 3-ій критерій отсутствуетъ, т. е. нельзя доказать заболѣванія почечекъ: альбуминурия при нихъ не было. Это изъ сказаннаго выше вытекало само собою было уже указано, что почечные яды, вызывающіе глюкозурию, не должны въ то же время обусловить и альбуминурию. Глюкозурия можетъ быть безъ альбуминурии. При высокой же степени пораженія этими ядами почечной ткани, глюкозурия обычно даже отсутствуетъ, т. к. увеличивается непроницаемость почечекъ (рѣзкая отравленія кантаридиномъ, точно также рѣзкая гиперглюкемия при уремии). Такимъ образомъ 3-ій признакъ, т. е. возможность обнаруженія почечнаго заболѣванія, — не обязательнъ. Конечно, въ нѣкоторыхъ случаяхъ онъ чрезвычайно важенъ, какъ дифференціально-диагностическій признакъ, но не обязательнъ.

Болѣе существенъ 1 признакъ — т. е. наличие нормальной или повышенной концентрации; но и противъ его обязательности возражаетъ Н. Salomon: организму вообще свойственна избыточная компенсація, превышающая необходимую для покрытія какаго-либо дефекта, а потому и въ этомъ случаѣ возможно предположить, что въ моментъ, когда увеличенная проницаемость почечекъ грозитъ организму обиднѣемъ сахара въ крови, происходитъ компенсаторное новообразование сахара, превышающее траты, и такимъ образомъ получается гиперглюкемия, какъ слѣдствіе уже первичнаго пораженія почечекъ.

Поэтому остаются обязательными критеріями почечнаго диабета независимость выдѣленія сахара въ мочѣ и количества сахара въ крови отъ пріемовъ углеводовъ. Но и тутъ нужно прибавить, что абсолютной независимости не имѣется, такъ какъ, какъ извѣстно, и при флоридиновой глюкозурии имѣется нѣкоторая зависимость отъ пріемовъ углеводовъ.

Кромѣ того, пищевыя гиперглюкемия и глюкозурия могутъ

быть обусловлены сопутствующим заболеванием, например, Базедовой болезнью и т. п.

Поэтому ищется некоторая зависимость между содержанием сахара в крови и глюкозурией с одной стороны и приемом углеводистой пищи с другой еще не говорить против, но только отсутствие этой зависимости говорит за почечный диабет.

Из описания ясно, насколько затруднительной бывает диагностика почечного диабета. Понятно поэтому, почему почечный диабет не может считаться до сих пор надежно установленной формой заболевания, и такие авторитеты, как у. Noorden, высказываются против вероятности подобного происхождения некоторых случаев диабета, основываясь отчасти на небольшом количестве описанных случаев и кратковременности наблюдения.

Поэтому чрезвычайно важным в этом отношении является сообщение Salomon'a, охватывающее более 10 случаев почечного диабета, в которых гликозурия наблюдалась годами, в некоторых случаях даже десятками лет.

Это заболевание, по его словам, начинается обычно в детском или юношеском возрасте; часто наблюдаются семейное предрасположение и нервная почва. Обычно приемом количество сахара в крови не было повышено. Выделение сахара мочой не превышает за сутки 12,0 гр. и 1% концентрации, мало зависит от пищи: разница между количеством сахара, выделяемым при смешанной пище и при строгой диете, не превышает 8—10 гр., обычно значительно ниже; при приеме 100 гр. глюкозы выделяется в мочу сахара не свыше 10%, а чаще ниже—1—3—7%, причем количество сахара в крови увеличивается на 0,01%—0,03%, т. е. почти столько же, сколько и у нормальных людей. Больные не испытывают обычных симптомов диабета. Затем, несмотря на юношеский возраст больных, этот почечный диабет, не обнаруживает никакой тенденции к прогрессированию в отличие от истинного, так что предсказание при нем совершенно благоприятно. Ввиду этого Salomon предлагает выделить эту форму диабета под названием „Diabetes innoens“.

Картина болезни, таким образом, очень характерна, и сравнительно редкую диагностику ее он объясняет с одной

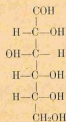
стороны тем, что еда до сих пор обычно не искали, а с другой стороны затруднительностью определения сахара в крови, являющегося абсолютно необходимым при диагностике этого заболевания.

Прежде чем перейти к описанию методов количественного определения сахара в крови, попытаюсь сделать в самых кратких чертах обзор существенных свойств виноградного сахара, поскольку они имеют значения для его определения.

Краткое описание виноградного сахара в химическом отношении.

Виноградный сахар есть один из представителей многоатомного класса гексоз, именно альдогексоз, а гексозы относятся к простейшим сахаристым соединениям, т. е. к моносахаридам. Вообще же все сахаристые соединения или иначе углеводы представляют из себя соединения двойственной функции, проявляющие одновременно и свойства спиртов, и свойства альдегидов или кетонов.

Структурная формула его представляется в следующем виде.



Присутствие в ней 4 асимметрических атомов углерода и отсутствие симметрии в строении позволяют приложить стереохимическую гипотезу в полном объеме, таким образом глюкоза должна иметь 2⁴=16 стереоизомеров, из которых в настоящее время известно 14. Вследствие присутствия асимметрических атомов углерода, она оптически дельтерна, именно вращает плоскость поляризации влево $[\alpha]_D = -52,74^\circ$.

Слабые растворы ее обнаруживают биуретацию.

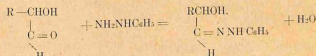
Глюкозы присуща способность брожения, так, напр.: в нейтральном или слабо подкисленном органической кисло-

той раствор в присутствии дрожжей подвергается алко-гольному брожению: $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 = 2\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} + 2\text{CO}_2$.

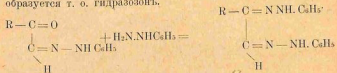
Эта способность глюкозы и еще некоторых гексоз но далеко не общая всем гексозам, объясняется E. Fischer'ом особенностями их стерической конфигурации.

Спиртовые свойства глюкозы выражаются в ее способности образовывать сложные эфиры—наприм. пентацелированное глюкоза $\text{C}_6\text{H}_7\text{O}(\text{C}_2\text{H}_5)_5$, пятибензойный эфир ее $\text{C}_6\text{H}_7\text{O}(\text{C}_6\text{H}_5)_5$ и пр. Подобными реакциями доказывается, что глюкоза—пятиатомный спирт.

Шестой же кислородный атом входит в состав альдегидной группы. Глюкоза, принадлежа к альдегидам, легко окисляется: при насыщении ее раствором хлором в присутствии окиси серебра глюкоза окисляется в одноосновную гексоновую к-ту—гликоновую $(\text{CH}_2\text{OH} - (\text{CHOH})_4 - \text{COOH})$, под влиянием же азотной к-ты окислению подвергается не только альдегидная группа, но и первично-спиртовая—и получается сахарная к-та. $\text{COOH} - (\text{CHOH})_4 - \text{COOH}$. Эти две реакции доказывают альдегидное строение, т. к. при окислении кетонов, получаются продукты, менее богатые углеродом. Сь фенолгидразином, подобно всем моносахаридам, глюкоза образует особенно характерное соединение, мало растворимое и хорошо кристаллизующееся, причем первая стадия реакции протекает вполне аналогично реакции у альдегидов—стадия образования гидрозона.



Образовавшийся гидрозон при нагревании в присутствии уксуснокислого натрия, предварительно подвергавшись своеобразному окислению (спиртовая группа превращается в карбониль), присоединяет еще одну молекулу фенолгидразина и образуется т. о. гидразон.



Образовавшиеся из различных моносахаридов гидразоны отличаются между собой точкой плавления, растворимостью и оптическими свойствами, и часто служат поэтому для идентификации сахаров и количественного определения. Фенилглюкозазон кристаллизуется ввиде желтых тонких иголь, нерастворимъ въ водѣ, растворяется въ пиридинѣ и кипящемъ спиртѣ, плавится при 204—205°C. Далѣе глюкоза, какъ выше было отмѣчено, подобно альдегидамъ, легко окисляется окислами металловъ (Cu, Hg, Bi, Arg и пр.) въ щелочномъ растворѣ, причемъ одновременно восстанавливаетъ эти металлы

Сама глюкоза окисляется распадается: при дѣйствіи окиси серебра получается гликолевая к-та ($\text{CH}_2\text{—COOH}$), при дѣйствіи окиси мѣди главнымъ образомъ тартроновая к-та. На этомъ свойствѣ глюкозы основано большинство качественныхъ и количественныхъ методовъ ея определения т. е. редуціонная проба. Точно также для количественнаго определения глюкозы пользуются ея оптическими свойствами, способностью къ броженію и образованіемъ изъ нея глюкозаона.

БИБЛИОТЕКА
Кафедры Общей Гигиены
1-го Харьковского Медицинскаго Института

Методы количественнаго опредѣленія сахара въ крови.

Количественное опредѣленіе сахара въ крови становится возможнымъ послѣ предварительнаго освобожденія ея отъ бѣлка и другихъ составныхъ частей, препятствующихъ опредѣленію сахара.

Методовъ для освобожденія крови отъ бѣлка предложено со времени работъ Cl. Bernard'a очень много; нѣкоторые изъ нихъ имѣютъ только историческій интересъ, а изъ методовъ, имѣющихъ до сихъ поръ значеніе, укажу главнымъ образомъ на методъ Schenk'a, Abeles'a, Waymouth, Reid'a, Bang'a, Michaelis и Rona.

Методъ Schenk'a основанъ на осажденіи бѣлка прибавленіемъ къ набитку сулемой, и послѣдовательномъ осажденіи сулемы, остающейся въ растворѣ, сѣроводородомъ.

Методъ Abeles'a основанъ на осажденіи бѣлковъ алкогольемъ и уксуснокислымъ цинкомъ. Остающийся въ растворѣ цинкъ осаждается углекислымъ натромъ, а алкоголь удаленъ при сгущеніи жидкости.

Методъ Waymouth Reid'a основанъ на осажденіи бѣлковъ фосфорно-вольфрамовой кислотой при кипяченіи.

Методъ Bang'a основанъ на экстракціи сахара алкогольемъ, и послѣдовательной обработкѣ алкогольнаго экстракта для достиженія полной прозрачности кровиннымъ углемъ или коллоидальной окисью желѣза.

Методъ Michaelis и Rona.

Изъ методовъ этихъ авторовъ освобожденіе отъ бѣлка (касиномъ, мастикой) наибольшее распространеніе получило, вслѣдствіе своей простоты и точности методъ осажденія бѣ-

ковь при помощи коллоидальной окиси железа (Liqu. ferr. oxyd. dialys. Merck).

В существующих чертах он состоит из следующих моментов.

Кровь в количестве 30—50 к. с. разводится в 12—15 раз дистил. водой, объем точно измеряется. При постоянном взбалтывании крови к ней прибавляется коллоидальная окись железа в таком расчете, чтобы на 1 к.с. неразведенной крови приходилось бы 2,5—3,0 к.с. е.е. Избыток в избыточных границах не вредит. Смесь при постоянном взбалтывании оставляется на 10 мин. За это время выпадает обильный хлопчатый осадок.

Прибавлять 1,0 гр. тончайшего порошка $MgSO_4$ сильно встряхивать 1—2 минуты: освобождение от бляшек окончилось. Если фильтрат остается окрашенным, то это указывает на неполное осаждение гемоглобина, и тогда дальнейшей прибавкой уже ничтожных количеств железного раствора можно удалить и оставшиеся следы гемоглобина. Фильтрат, количество которого точно измерено, подкисляется уксусной кислотой и концентрируется до 4—6 к.с. при уменьшенном давлении (15 мм. Hg.) и t 45° С.

Выгодными сторонами этого метода является во 1-х, его несложность, во 2-х отсутствие нагревания и изменения реакции, в 3-х полное осаждение с бляшкой и самого осадителя и, наконец, в 4-х совершенное разрушение красящих веществ. Таким образом получается совершенно безцветный фильтрат, не содержащий никаких вторичных примесей, кроме небольшого количества электролитов, — и потому он годен для любого способа определения сахара.

Затем в свободной от бляшек жидкости производится собственно определение сахара. Вообще для количественного определения сахара пользуются его бродамиными, оптическими и редукционными свойствами. Для определения в крови брожение не может быть применено, т. к. кровь представляет чрезмерно разведенный раствор сахара, и образующееся количество углекислоты поэтому настолько незначительно, что трудно поддается определению.

Что касается поляриметрического определения сахара в крови, то конечно этот способ подкупает по сравнению с

редукционными своей простотой. Но против его применения, как клинического метода, говорят следующие соображения. Показания поляризационного аппарата дают ошибку при отчитывании, равную $\pm 0,02\%$; подобная ошибка при угле вращения в 1°, обуславливаемая 1% сахарным раствором, выражается в $\pm 2\%$, при угле в 0,5° даст уже ошибку в содержании сахара в $\pm 4\%$, и, тем же путем будет вращение, тем больше будет возрастать ошибка. Поэтому необходимо пользоваться растворами сахара не менее 0,5%, а так как требуется для исследования 4—6 к.с. жидкости, то для получения 0,5% жидкости потребуются 25 к.с. крови, а 1% раствора—50 к.с. крови. Ино, что из-за этого уже поляризация не может быть приписана к клиническим методам. Далее, в крови находятся следы и других оптически деятельных веществ, влияющих, как в сторону плюса (декстриноподобная вещества, гликоген, мальтоза и глюконовая к-та) так и в сторону минуса (фруктоза). В диабетической крови часто находят также тйвоващавшая β -оксимасляная к-та и притом в большом количестве (Minkovsky, 0,22%, Niqnoneng 0,5%).

Поэтому в последних случаях ошибку можно уменьшить только производством поляризации перед брожением и после его, так как β -оксимасляная к-та не способна бродить. Конечно, с производством брожения метод значительно усложняется: необходимо концентрировать жидкость для поляризации, развести для брожения и снова сконцентрировать для поляризации.

На способности сахара при окислении в щелочной среде производить редукционное действие, основано большинство методов количественного и качественного определения сахара.

Для количественного определения сахара в крови преимущественно употребляются методы, основанные на редукции солей, мёды или ртути.

Причем из первой группы, главным образом употребляются методы Феллинга, Bang'a, Pavy, Lehman-Maquisse'a, а из второй группы Кнаппа и Саксе.

Что касается Феллинговского метода, то он ввиду незначительного содержания сахара в крови не применяется в первоначальном своем виде, а редукция производится в избытке окиси мёды, выделяющаяся же закись определяется

или высвоямъ способомъ по Аллину и Пфлюгеру или же титрованиемъ по Бертрану.

При сравненіи этихъ способовъ оказывается, что они даютъ въ общемъ приблизительно одинаковые результаты, только для способа Банга при опредѣленіи сахара въ крови—получаются нѣсколько большія числа. Различіе это обусловливается тѣмъ обстоятельствомъ, что ввиду содержания значительнаго количества углекислыхъ щелочей въ Банговскомъ мѣдномъ растворѣ этотъ способъ опредѣляетъ не только виноградный сахаръ, но и другія редуцирующія вещества. Остальные же способы, повидимому, опредѣляютъ только виноградный сахаръ, такъ какъ цифры, получаемыя при этихъ методахъ, находятся почти въ полномъ соответствіи съ величинами, полученными поляризацией, и послѣ броженія съ другой стороны ими не обнаруживается редукціи. (Frank и Bretschneider, Griesbach и Strassner). Очевидно, поэтому, что при помощи этихъ методовъ опредѣляется только виноградный сахаръ, хотя Бангъ полагаетъ что и они даютъ только приблизительною величину, такъ какъ при помощи ихъ также съ одной стороны редуцируются и другія вещества въ крови, а съ другой стороны часть закисн мѣди задерживается составными частями крови. Что касается методовъ, основанныхъ на редукціи ртути, то послѣдніе даютъ нѣсколько меньшія цифры (Elden, Griesbach, и Strassner), но тѣмъ обусловливается это различіе, не выяснено.

Большинство изъ перечисленныхъ методовъ требуетъ для своего опредѣленія довольно значительныхъ количествъ крови (50—30 куб. сант.), какое количество брать у диабетиковъ, часто истощенныхъ, затруднительно. Тѣмъ болѣе затруднительно брать такіа количества повторно въ теченіе небольшихъ промежутковъ времени, какъ это необходимо, напримѣръ, при діагностикѣ почечнаго диабета.

Такимъ образомъ, клиника предъявляетъ требованіе, чтобы опредѣленіе совершалось въ возможно маломъ количествѣ крови. Кроме того, для клинцита важно, чтобы методы были, конечно, при сохраненіи достаточной точности, возможны болѣе несложны и не отнимали бы много времени. Въ отвѣтъ на эту потребность появились за 4 послѣдніе года отчасти видоизмѣненія старыхъ методовъ, отчасти совершенно новыя методы, стремившіся удовлетворить эти требованія, къ изложженію этихъ методовъ я и перехожу.

Клиническіе методы количественнаго опредѣленія сахара въ крови.

Методъ Herzfeld'a.

Этотъ методъ, какъ и каждый другой методъ опредѣленія сахара въ крови, распадается на 2 части: на отдѣленіе бѣлка и на опредѣленіе количества сахара въ безбѣлковой жидкости. Отдѣленіе бѣлка совершается метафосфорной кислотой, а опредѣленіе сахара въ освобожденной отъ бѣлка жидкости титрованиемъ метиленовой синью, которая при кипяченіи въ присутствіи щелочи обезбѣчивается отъ альдозъ, кетозъ и декстриновъ. Такое же обезбѣчиваніе вызываетъ бѣлокъ, холестеринъ и билирубинъ. Этимъ свойствомъ метиленовой сини обезбѣчиваться подъ вліяніемъ редуцирующихъ средствъ уже ранѣе пытался воспользоваться Neuman Vender для количественнаго опредѣленія сахара въ мочѣ.

Необходимыя реактивы. I—водный растворъ метиленовой сини 1%, (точн. уст.). II—20% ѣдк. кали. III 10% метафосфорная к-та. IV—0,1% растворъ винограднаго сахара.

Для титрованія употребляется растворъ метиленовой сини 1—100.000, для приготовления его берется 1 к.с. I раствора въ 100 кс. мѣрную колбу и прибавляется дистиллированной воды до знака—т. е. до 100,0 кс.

Установка титра раствора метиленовой сини. Къ точно вымѣренному количеству 0,1% винограднаго сахара прибавляется 0,5 к.с. 20% ѣдкаго кали, осторожно нагрѣваются на небольшомъ огнѣ до кипѣнія. Какъ только жидкость начнетъ желтѣть, изъ бюретки осторожно каплями по стѣнкамъ колбы прибавляютъ вышеуказанный растворъ метиленовой сини, причѣмъ кипяченіе продолжается и избѣгается встряхиваніе. Какъ только голубая окраска перестанетъ обезбѣчиваться

даже при осторожном помешивании стеклянной палочкой—титрование заканчивается.

Из приведенной таблицы видно, что реакция протекает почти количественно, причем 1 мг. сахара обезбичивает 1,6 к.с. раствора мет. сини, следовательно 1,0 куб. сант. обезбичивает 0,625 мг. сахара, 0,1 к. 0,0625 мг. виногр. сахара.

Вин. сахар.	Потрачено к.с. мет. сини				100.1000. Среднее.
	I.	II.	III.	IV.	
1 мг.	1,5	1,6	1,7	1,6	1,6
2 "	3,0	3,1	3,4	3,3	3,2
3 "	4,9	5,0	4,8	4,9	4,9
4 "	6,6	6,5	6,6	6,5	6,55
5 "	8,2	8,3	8,1	8,3	8,2
6 "	9,8	9,6	9,8	9,7	9,7
7 "	11,1	11,3	11,5	11,3	11,3
8 "	13,0	13,1	12,9	13,2	13,05
9 "	14,4	14,6	14,5	14,5	14,5
10 "	16,9	17,0	17,1	16,9	17,0

Определение в крови.

3—5 к.с. свежее выпущенной крови смешивается с трехкратным количеством 10% метафосфорной к-ты. Через 10 минут фильтруют. Осадок еще раз промывают метафосфорной к-той. Прозрачный фильтрат свободный от бика, холестерина и билрубина, нейтрализуется флажком кали и после нейтрализации прибавляют еще 0,5 кс. 20% йодного кали, кипятят на асбестовой ситке и при наступлении желтой окраски титруют раствором 1—100.000 метиленовой сини, пока последний не перестанет обезбичиваться.

Метод Taschau.

Он представляет собой приспособление для определения сахара в сравнительно малых (5 к.с.—10 к.с.) количествах крови Кнашповского йодного способа, основанного на редукции цианетой ртути в щелочном растворе.

При прежнем применении Кнашповского метода требовалось очень много крови (50 к.с. для диабетической и 70 к.с. для нормальной), так как определение было основано на

полной редукции определенного количества Кнашповского раствора; Ташау же предлагает производить редукцию в избыток Кнашповского реактива и определять всевозможным способом оставшуюся в растворе нередуцированную окис. ртуть, превратив ее предварительно в сурьистую ртуть. Освобождение крови от бика совершается при этом способе по SchenkU.

К 5—10 к.с. крови (взятым по вбсу) прибавляется равный объем воды, двойной объем 2% соляной кислоты, и 5% сулемы. Осаждение биками совершается в течение 24 часов на ледник. Прозрачная жидкость отфильтровывается. Небольшая сулема, находящаяся в растворе, осаждается пропусканием в течение 10 минут сфвородорода; сфвородород изгоняется током воздуха, после чего жидкость фильтруют. Фильтрат—при 10 к.с. крови—около 60 к.с.—нейтрализуется 33% натровой щелочью и, после подкисления 25% соляной кислотой, стущается на водяной бане до 10—15 сант.

Затем стущенная жидкость переводится в мѐрную 25,0 к.с. колбу; колба же многократно прополаскивается небольшим количеством воды, которым мѐрная колбочка дополняется до знака. Из мѐрной колбочки жидкость переливают в колбу с приспиченной к шейке восходящей трубкой (обратный холодильник); мѐрную колбочку промывают 5—10 к.с. воды, прибавляют 10 к.с. Кнашповского раствора и кипятят на мѐдной ситке 2 минуты. Снимают с огня и охлаждают, водяной струей центрифугируют в течение нескольких минут (пробирки для центрифугирования должны иметь емкость в 45 куб. сант.), после чего на дне получается черный осадок, а совершенно прозрачная стощанная жидкость еще раз фильтруется. 35 куб. с. фильтра переливаются в раздѐльную воронку, выходящую 300 куб. с. После прибавления к нему 3 куб. с. 25% соляной кислоты, осаждают ртуть 20 куб. с. свежее приготовленной сфвородородной воды. (Вследствие выделения сфвородорода и сильной кислоты эту операцию обязательно производить в вытяжном шкафу). Поверотом крана раздѐльной воронки жидкость пропускается через наполненный асбестом, высушенный и взвешенный тигель Гуча (GoochTiegel). При промывании раздѐльной воронки струей воды из промывательной колбы легко удается весь осадок перенести на тигель.

Гуча. Последний после многократных промываний дистиллированной водой высушивается при 100° и после охлаждения взвешивается. Многократными определениями раствором чистого виноградного сахара установлены количества сѣрнистой ртути, соответствующая виноградному сахару. (Постоянно из фильтра для определения ртути бралось 35 куб. с.).

Ошибки при двойных исследованиях, по данным автора, ничтожны: редко превышают 0,5 mg. сѣрнистой ртути, что соответствует 0,1—0,2 mg. сахара, т. е. 1—2% общего количества сахара, если берется для исследования 10 куб. с. крови; при 5 к. с. крови ошибка, конечно, удваивается. Нужно еще прибавить, что при 5 к. с. крови определение сахара дает большия на 5% величины, чѣмъ при 10 к. с. крови.

Виногр. сахаръ въ mggr.	Сѣрн. ртуть въ mggr.	Виногр. сах. въ mggr.	Сѣрн. ртуть въ mggr.	Вин. сах. въ mggr.	Сѣрн. ртуть въ mggr.
1	78,0	8	56,0	15	28,0
2	75,0	9	52,5	16	23,5
3	72,0	10	48,5	17	19,0
4	69,0	11	44,5	18	14,5
5	66,0	12	40,5	19	10,0
6	63,0	13	36,5	20	5,5
7	59,5	14	32,5	—	—

Методы, представляющие из себя видоизмѣненіе первоначального метода Бертрана.

Принцип Бертрановскаго метода состоитъ въ томъ, что испытуемый сахарный растворъ кипятится въ избыткѣ фелинговой жидкости. Образующаяся закиси жѣды собирается на асбестовомъ фильтрѣ и растворяется въ растворѣ сѣрникой кислоты соли окиси жѣлѣза, причемъ окиси жѣлѣза переходить при этомъ раствореніи въ закиси въ количествѣ, эквивалентномъ закиси жѣды. Количество же образовавшейся закиси жѣлѣза узнается по количеству раствора хамелеона (марганцевокислаго кали), необходимому для окисленія ея. Изъ полученной такимъ образомъ въ концѣ концовъ величина закиси жѣды узнаютъ по эмпирически составленной таблицѣ соответствующее количество сахара. Способъ по автору оказывается точнѣе, если въ растворѣ находится болѣе 10 mg. сахара, въ противномъ случаѣ количество закиси жѣды выпадаетъ неравномерно, т. к. часть ея по Риббегу окисляется кислородомъ въ теченіе кипяченія, часть удерживается составными частями крови въ растворѣ.

Такъ какъ таковыхъ количествъ сахара не можетъ быть въ небольшомъ количествѣ крови, то, чтобы получить при этомъ всетаки полное выпаденіе закиси жѣды, нужно или уменьшить соответственно находящемуся въ крови сахару количество жѣднаго раствора или же прибавить сахаръ.

Первые изъ приведенныхъ способъ Бертрана для определения сахара въ крови Moskel и Frank брали еще количество жѣднаго раствора, рекомендованное Бертраномъ для определения сахара въ различныхъ жидкостяхъ. Поэтому въ ихъ способѣхъ, какъ бы было всего 5 к. с., количество сахара не соответствовало требованію Бертрана, хотя они въ послѣднемъ случаѣ, т. е. при исследованіи крови, прибавляли къ 20 к. с.

мѣднаго раствора 5 mg. сахара, который, конечно, вычитается изъ найденной величины. По ихъ мнѣнию при этомъ происходитъ всетаки полное осаждение закиси мѣди, благодаря тому, что они редуцированный растворъ сразу послѣ кипячения стали охлаждать въ струѣ воды.

Слѣдующее улучшение для приспосованнаго способа Бертрапа къ опредѣленю сахара въ еще меньшихъ количествахъ крови даютъ съ одной стороны Коварскій, съ другой—Michaelis. Коварскій беретъ для редукции не 20 куб. с. мѣднаго раствора, а 2 куб. с. Слѣдовательно, если при 20 куб. с. мѣднаго раствора получается равномерное выпадение закиси мѣди при условии присутствія 10 mg. сахара, то при 2 куб. с. — требуется всего 1 mg. Это количество сахара онъ и прибавляетъ къ мѣдному раствору на каждые 2 куб. с. его, каковое количество и вычитаетъ потомъ изъ найденной величины.

Michaelis же только уменьшилъ соотвѣтственно количеству сахара, находящемуся въ 1 к. с. крови, количество мѣднаго раствора.

Способъ Коварскаго.

Для каждаго опредѣленія достаточно 0,5 куб. с. крови, которое вполне удастся добыть улозомъ мягкой пальцы. Чтобы предотвратить свертываніе крови при собираніи отдѣльныхъ капель, онъ собираетъ ихъ въ отгѣренное зарядѣ количество 2% фтористаго натра. При этомъ соотвѣтственно уменьшено количества мѣднаго раствора Коварскій уменьшилъ пропорционально количеству щелочнаго раствора и раствора сѣрнокислой окиси желѣза, усиливъ разведеніе раствора марганцовокислаго кали. Кроме того, при освобожденіи бѣлка, отнимающее много времени фильтрованіе было замѣнено центрифугированіемъ. Въ остальномъ же методика осталась такою же, какъ при способѣ Moskel и Frank'a. Итакъ, при способѣ Коварскаго употребляются слѣдующіе растворы:

Растворъ I.

Cupr. sulfur pur. pro anal. 8,0.
Sacchar. uvici chem. pur. 0,1.
Aq. destill. ad 200,0.

Растворъ II.

Tartar. natronat. 40,0.
Natri hydric. in bacil. 30,0.
Aq. destill. ad 200,0.

Растворъ III.

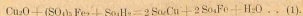
Ferr. sulfur. oxydati 10,0.
Acid. sulf. concentr. 40,0.
Aq. destill. ad 200.

Растворъ IV.

Kali hypermag. 1,0.
Aq. dest. ad 200,0.

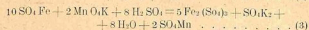
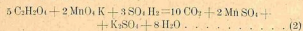
Растворъ марганцовокислаго кали каждый разъ употребляется въ 10-кратномъ разведеніи. Основной растворъ измѣняется очень медленно, т. е. установка титра разведеннаго раствора необходима только ирѣдка. Титръ устанавливаютъ по 0,1% раствору шавелеваго аммонія. Эта соль негитроскопична и не вытѣряется, а потому имѣетъ въ смыслѣ сохраненія въ чистомъ видѣ значительное преимущество передъ шавелевой кислотой. Къ 10 куб. с. этого раствора прибавляютъ 2 куб. с. концентрированной сѣрной кислоты и титруютъ 10-кратно разведеннымъ растворомъ хамелеона до оставшагося розоваго окрашиванія. Частное отъ дѣленія постоянного числа 8,95 на число пошедшихъ куб. сант. марганцовокислаго кали указываетъ, сколько mg. мѣди отвѣчаетъ 1 куб. с. этого раствора.

Это число 8,95 становится понятнымъ изъ слѣдующихъ соображеній. При раствореніи закиси мѣди въ растворѣ сѣрнокислой окиси желѣза закись мѣди переходитъ въ окисъ и эквивалентное количество окиси желѣза переходитъ въ закись:



Слѣдовательно, зная количество марганцовокислаго кали, пошедшее на окисленіе закиси желѣза, мы можемъ узнать количество закиси мѣди, образовавшееся при окисленіи сахара. Такъ какъ титръ раствора марганцовокислаго кали непостояненъ, то мы узнаемъ его изъ количества куб. сант., пошедшаго на окисленіе шавелеваго аммонія или же, что

одно и то же, щавелевой кислоты (при установке титра из кислой среды аммиак в реакцию не участвует). Примем же мы знаем из формул 2 и 3, что



молекула щавелевой кислоты (или щавелево-кислого аммония $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4 \cdot 2 \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$) эквивалентна 2 атомам закисного железа, а из уравнения 1—2 атомам ж.д. Принимая во внимание их атомные вѣсы, мы находим 142,1 гр. щавелекислого аммония эквивалентны $2 \times 63,6$ ж.д., или 1 гр. щавелекислого аммония эквивалентен $\frac{63,6 \times 2}{142,1} = 0,8951$ Cu, а 1 мг.г. $(\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4 \cdot 2 \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}) = 0,8951$ мг. Cu.

Таким образом, 10 куб. сант. 0,1% щавелевокислого аммония, употребленные при определении титра марганцево-кислого кали, эквивалентны 8,951 мг. ж.д. или при — точности до второго десятичного знака, что вполне достаточно, 8,95 мг.г. Раздѣляя это число, т. е. 8,95 на число пошедших куб. сант. раствора марганцевокислого кали, мы узнаем следовательно, сколько миклизитраммам ж.д. соответствует каждый куб. сант. марганцевокислого кали. Так как основой раствор его не измѣняется в течение месяцев, то контроль нужно производить только время от времени.

Методика исследования.

Кровь, добытая уколомъ пальцевой мякоти, переносится капиллярной пипеткой в бутылкообразную трубочку, куда предварительно до нижней отметки, соответствующей 0,5 к.с., было налито 2% фтористого натра (бутылкообразная трубочка, емкостью болѣе 1 к.с., имѣетъ всего 2 отметки по 0,5 к.с.), пока не достигнетъ верхней черты. Такъ как всѣгдѣ выдувания и промывания капиллярной пипетки образуется пѣна, препятствующая точному наполнению трубочки, то въ концѣ прибавляютъ каплю эфира, которая быстро уничтожаетъ пѣну. Однимъ уколомъ удается иногда наполнить 2 подобныя трубочки. Откуда кровь переносится капиллярной пипеткой въ

центрифужную пробирку, имѣющую 2 дѣления по 5 куб. сант. Дважды во избежаніе потери промываютъ трубочку дистиллированной водой, которую пипеткой переносятъ въ центрифужную пробирку и доводятъ дистиллированной водой объемъ жидкости въ послѣдней до нижняго знака, т. е. до 5 к.с. Прибавляютъ на концѣ пока мельчайшаго порошка сегнетовой соли и вѣсколько разъ покачиваютъ, чтобъ растворить ее. Теперь прибавляютъ, 4,0 к.с. Liqueur Ferri oxyd. dial. (Merck). Заправку хорошо подогнанной пробой, сильно встряхиваютъ и оставляютъ стоять 5 мин., послѣ чего добавляютъ до верхняго знака (10 к.с.) Liq. Ferri oxyd. dialys. и опять сильно встряхиваютъ. Затѣмъ центрифугируютъ 5—10 мин.

Между тѣмъ въ маленькую Эрленмейеровскую колбочку, емкостью 30—40 к.с., наливаютъ ж.д.наго раствора точно 2 к.с. (измѣренныхъ пипеткой) и 2 к.с. щелочнаго раствора. Отцентрифужированная жидкость, совершенно прозрачная, не содержащая бѣлки, отсасывается въ количествѣ 5 к.с. и присоединяется къ ту же колбочку. Нагрѣваютъ послѣднюю на азбестовой сѣткѣ до кипѣнія и затѣмъ кипятить спокойно 3 минуты. Для избежанія потерь отъ разбрызгиванія рекомендуется сразу же употребить небольшое пламя, причемъ для лучшей регуляціи пламени очень удобны колпачки изъ жѣлѣной сѣтки, одеваемые на горѣлку. Колбу съ горячей жидкостью переносятъ въ сосудъ съ холодной водой и оставляютъ тамъ стоять 5 м.

Въ это время черезъ азбестовый фильтръ просасываютъ 10—20 к.с. дистиллированной воды. Въ Эрленмейеровскую колбу емкостью около 75—100 к.с. и съ одинаковымъ просвѣтомъ, пѣны, какъ у вышеупомянутой маленькой Эрленмейеровской колбочки, вставлена резиновая пробка съ двумя отверстиями: черезъ одно отверстие проходитъ Аллиновская воронка съ азбестовымъ фильтромъ, черезъ другое — изогнутая, стеклянная трубка, соединяющаяся съ воднымъ насосомъ).

Это предварительное испытаніе необходимо, чтобы убѣдиться, что фильтръ достаточно плотенъ; кроме того, если остались отъ предыдущихъ исследований слѣды закиси жѣлѣза, то они при этомъ удаляются.

Теперь оставшую жидкость голубого цвѣта просасываютъ черезъ фильтръ, стараясь, возможно гнѣе оставить осѣвшую на днѣ колбочки кирпично красную закись жѣд. Къ ней осторожно приливаютъ 5—8 куб. с. дистил. воды и промыв-

ную воду опять так переливать на фильтр. Это промывание повторяют раз 5, так как необходимо очистить закись мѣди отъ стѣловъ сѣрнистой окиси мѣди. Несмотря на старание удержать закись мѣди въ колбѣ, часть ея, и притомъ большая, переходитъ на асбестовый фильтр. Въ хорошо приготовленномъ асбестовомъ фильтръ закись мѣди ложитъ на поверхности фильтра или въ верхнемъ слоеѣ его, если же закись усматривается въ нижнихъ слояхъ, то такой фильтр не годенъ и его нужно отбросить.

Затѣмъ нарушаютъ связь съ насосомъ и пробку амбѣтъ съ асбестовымъ фильтромъ вставляютъ въ шейку колбочки, гдѣ послѣ промыванія осталася еще часть закиси мѣди. На асбестовый фильтръ наливаютъ 3 к. с. раствора сѣрнистой окиси желѣза, причемъ закись мѣди при легкомъ взбалтываніи становится мгновенно голубовато-черной, а затѣмъ получается прозрачный растворъ, для чего приходится ждать около одной минуты. Снова соединяютъ съ насосомъ и 2—3 раза промываютъ 3—5 куб. с. воды. Весь фильтратъ не долженъ составлять болѣе 10—12 к. с. Снова нарушаютъ связь съ насосомъ и титруютъ жидкость только что приготовленнымъ растворомъ хамелеона. Титрование возможно производить съ точностью до 0,05 куб. с.

Высчитываніе очень просто, нужно только помнить въ первыхъ, изъ найденнаго числа сахара необходимо вычесть 1 mgr. находящийся въ 2 куб. с. мѣднаго раствора, и повторить, что остатокъ найденнаго количества сахара находится не въ 0,5 к. с. крови, употребленной для исследования, но въ 0,25 к. с., такъ какъ изъ общаго объема сѣрхи 10 к. с. берется только половина для исследования. Количество сахара, соотвѣствующее найденнымъ количествомъ мѣди находится по слѣдующей таблицѣ.

Сахаръ въ mgr.	Мѣди въ mgr.	Сахаръ въ mgr.	Мѣди въ mgr.	Сахаръ въ mgr.	Мѣди въ mgr.	Сахаръ въ mgr.	Мѣди въ mgr.
1,0	1,95	1,6	3,10	2,2	4,25	2,8	5,40
1,1	2,15	1,7	3,30	2,3	4,45	2,9	5,60
1,2	2,35	1,8	3,50	2,4	4,65	3,0	5,75
1,3	2,55	1,9	3,70	2,5	4,80	3,1	5,95
1,4	2,75	2,0	3,85	2,6	5,00	3,2	6,15
1,5	2,90	2,1	4,05	2,7	5,20	3,3	6,35
—	—	—	—	—	—	3,4	6,55
—	—	—	—	—	—	3,5	6,70

Способъ Michaelis.

Кровь въ количествѣ 1,0—1,5 куб. с., измѣренная точной пипеткой съ дѣлениями на $\frac{1}{100}$ к. с., выдувается въ Эрленмейеровскую колбу емкостью 100 куб. с., куда заранее было налито 10 куб. с. воды. Пипетка много разъ промывается той же водой, а затѣмъ дестиллированной, причемъ общій объемъ жидкости доводится точно до 12 куб. с. При непрерывномъ покачиваніи жидкость нагреваютъ на асбестовой стѣлкѣ до кипѣнія, черезъ 2 секунды снимаютъ съ огня и къ ней прибавляютъ каплями при постоянномъ встряхиваніи 7,5 куб. с. Liqor ferri xudati dialysati (Riedel) и 0,5 куб. с. 0,5% раствора сѣрнистой окиси магна. Фильтруютъ, стараясь получить 12,5 куб. с. его фильтрата, для чего разбавляется даже осторожно выжатъ фильтръ, и только въ случаѣ пониженія сахара въ крови до 0,2% можно довольствоваться 10 к. с.

Къ фильтрату, находящемуся въ Эрленмейеровской колбѣ, высотой около 10 куб. с. почти цилиндрической формы, прибавляютъ 0,3 куб. с. мѣднаго раствора и 0,7 куб. с. щелочнаго. Если находится въ 12,5 куб. с. фильтрата менше 0,7 mgr. сахара, то мѣднаго раствора прибавляютъ 0,3 куб. с.

Нагреваютъ сначала на большомъ, затѣмъ уже на маленькомъ огнѣ до кипѣнія и, прикрывъ жидкость часовымъ стекломъ, кипятятъ спокойно 3—3½ мин., если закиси образуется немного, то можно кипятить 4 мин. Горячую жидкость сливаютъ въ пробирку для центрифугирования въ 30 куб. с. емкость, затѣмъ дважды промываютъ осадокъ въ колбѣ 1 к. с. дестиллированной воды, только что кипяченной и оставшей на воздухѣ. Промыванія воды сливаютъ каждый разъ въ центрифужную пробирку, а въ колбу наливаютъ 1 куб. с. желѣзнаго раствора.

Для отделения закиси мѣди жидкость подвергаютъ центрифугированию. Такъ какъ при центрифугировании хотя бы и продолжительномъ, но непрерывномъ, осадокъ плохо пристаетъ къ основанию пробирки, и потому слить всю сѣрникоислую окись мѣди безъ потери осадка не удается, то Michaelis предлагаетъ дважды центрифугировать. Причемъ первое центрифугирование при употреблении центрифуги съ 2000 оборотами длится около 2—5 мин., затѣмъ жидкость отсасывается осторожно шпателькой настолько, чтобы оставалось еще 2—3 куб. с. ея, которую и подвергаютъ вторичному центрифугированию въ течение 2—5 мин.; осадкъ чего осадокъ уже хорошо пристаетъ ко дну пробирки и можно тогда слить всю жидкость, но крайней мѣрѣ настолько, чтобы ее не было замѣтно. Остающаяся же внутри осадка и на стѣнкахъ не обуславливаетъ замѣтной погрѣшности въ опредѣленіи.

Вытираютъ чистымъ полотенцемъ край пробирки и приливаютъ въ нее изъ колбы, служившей для кипяченія, находящейся 1 к. сант. желѣзнаго раствора. Колбу 2 раза промываютъ опять однимъ куб. сантиметромъ дистиллиров. воды, свѣже прокипяченной и остывшей на воздухѣ, и промытую воду сливаютъ въ центрифужную пробирку. Осадокъ при легкомъ покачиваніи быстро растворяется сѣрникоислой окисью желѣза и образовавшуюся закись желѣза титруютъ $\frac{1}{1000}$ — нормальнымъ растворомъ марганцевокислаго кали, находящимся въ микроюреткѣ съ дѣлениями въ $\frac{1}{1000}$ к. с. Этотъ растворъ готовится каждый разъ изъ осн. $\frac{1}{100}$ норм. раствора марганцевокислаго кали. Последний долже не портится. Приливаютъ сначала быстро, а затѣмъ, когда образующееся окрашиваніе начинаетъ держаться около 2 секундъ, титруютъ осторожно, выжидая послѣ прибавленія 2 капель около 7 секундъ и все время сильно взбалтывая. Если же послѣ 7 секундъ только исчезаетъ окрашиваніе, то прибавляютъ по капль.

Параллельныя опредѣленія при пользованіи микроюреткой, капля которой равняется 0,028 кб. с., показали, что разница между ними не превосходитъ 0,07 кб. с. Такимъ образомъ ошибка при нахожденіи въ испытуемомъ растворѣ 1 мг. сахара будетъ равняться 2%, а при нахожденіи 0,5 мг. 5—7%. Принимая во вниманіе, какую часть общаго объема жидкости составляетъ фильтратъ, легко высчитать количество сахара въ крови.

Соответствующія потраченному количеству куб. сан. марганцево кислаго кали количества сахара найдется послѣдующей эмпирически составленной таблицѣ:

Количество марганцево-кислаго кали	Количество сахара.	Количество марганцево-кислаго кали	Количество сахара.	Количество марганцево-кислаго кали	Количество сахара.
0,5	0,39	1,3	0,65	2,2	1,01
0,6	0,42	1,4	0,69	2,3	1,04
0,7	0,45	1,5	0,72	2,4	1,08
0,8	0,48	1,6	0,76	2,5	1,12
0,9	0,51	1,7	0,80	2,6	1,15
1,0	0,55	1,8	0,84	2,7	1,19
1,1	0,58	1,9	0,88	2,8	1,23
1,2	0,62	2,0	0,93	2,9	1,27
—	—	2,1	0,97	3,0	1,31

Способы определения I. Bang'a

Микрометод Bang'a.

Вь способах определения Банга мѣдные растворы отличаются отъ Фелингова тѣмъ, что образующаяся при редукции закиси мѣди не выпадаетъ; растворъ остается совершенно прозрачнымъ. Для достижения этого авторъ воспользовался свойствами роданистыхъ и хлористыхъ соединений мѣди закисного типа. Роданистая закиси мѣди нерастворима въ водѣ и углекислыхъ щелочахъ. Такимъ образомъ при редукции раствора соданина (углекислой и углекислой соли) въ присутствии роданистаго калия происходитъ выпадение съ количественной познотой и точною близкой роданистой закиси мѣди. Обыкновенное прибавление роданистаго калия препятствуетъ выпадению роданистой закиси мѣди, и послѣдняя остается въ растворѣ видѣ безцвѣтнаго соединения (I способъ Bang'a).

Точно такое же дѣйствіе на растворы, содержащіе сѣрнокислую мѣдь, углекислый и двууглекислый калий, производятъ газолины соли, особенно хлористый калий. Подобные растворы при редукции обезцвѣиваются, остаются совершенно прозрачными, такъ какъ хлористая закиси мѣди безцвѣтна и видима въ водѣ въ избыткѣ хлористаго калия.

Послѣдній растворъ имѣетъ слѣдующія преимущества передъ первымъ: онъ безгранично проченъ, вслѣдствіе меньшаго (болѣе чѣмъ въ 4 раза) содержания углекислыхъ щелочей онъ въ меньшей степени окисляется редуцирующее дѣйствіе на другія вещества, находящіяся въ крови помимо сахара, значительно легче готовится и стоитъ въ 10 разъ дешевле.

Итакъ, новый растворъ Bang'a готовится слѣдующимъ образомъ: 160,0 двууглекислаго калия растворяетъ въ

литровой колбѣ въ 600—700 к. с. воды, прибавляютъ 100,0 углекислаго калия, 66,0 хлористаго калия, 100 к. с. 4,4% раствора сѣрнокислой мѣди ($\text{CuSO}_4 + 5\text{H}_2\text{O}$) и допозияютъ растворъ до литра дистиллированной водой. При растворении солей въ водѣ рекомендуется только осторожно взбалтывать. Растворъ при мѣнять для изслѣдованія можно только по истеченіи 24 часовъ. При производствѣ анализа 3 к. с. этого основнаго раствора разводится 11 к. с. 20—21% раствора хлористаго калия, въ которыхъ вмѣстѣ съ тѣмъ заключается и подлежащій опредѣленію сахаръ, такъ какъ ими предварительно налсаается сахаръ изъ крови.

Образующаяся при кипяченіи этого раствора съ сахаромъ хлористая закиси мѣди легко окисляется даже при соприкосновеніи съ воздухомъ. Различные окислители производятъ подобныя же образцы полное и быстрое окисленіе. Изъ шихъ іодъ въ щелочномъ растворѣ производитъ только окислительное дѣйствіе.



Поэтому очень удобно опредѣлить количество закиси мѣди, окисляя ее іодомъ и о концѣ окисленія узнавая изъ ультрамаринаго окрашиванія, позволяющагося при дѣйствіи свободнаго избыточнаго іода на крахмалъ. При этомъ преимущество іодометрическаго метода при опредѣленіи количества сахара въ крови состоитъ въ томъ, что онъ при малыхъ количествахъ закиси мѣди даетъ даже болѣе точныя показанія, чѣмъ при большихъ.

Такъ какъ при изслѣдованіи по микрометоду берутъ 2—3 капли крови съ содержаниемъ при нормальныхъ условіяхъ около 0,15—0,20 mgd. мѣди. Съ другой стороны 1 к. с. n/100 раствора іода въ состояніи окиснить 0,318 мгд. мѣди, поэтому 0,15—0,2 mgd. мѣди требуетъ для окисленія 0,3—0,5 к. с. n/100 раствора іода; вѣроятно этимъ количествомъ раствора іода будутъ отвѣчать большае сахара, такъ какъ при Фелъгерсовскомъ методѣ получается большае мѣди, чѣмъ при прочихъ. Принимая это во вниманіе можно допустить, что при титрованіи іодомъ каждому 0,1 мгд. сахара будетъ соответствовать около 0,3 к. с. n/100 раствора іода. А жьтъ какъ концѣ реакціи можно узнать съ точною до 0,02 к. с. n/100 раствора іода, то слѣдовательно при іодометрическомъ методѣ точъ

ность в определении количества сахара можно довести до 0,01 мг/гр.

n/100 раствор йода не постоянен, а потому требуется готовить его через 2 дня, n/200 раствор йода следует даже приготовить каждый день свежим.

n/100 раствор йода готовится из йодоватокислого калия, и n/10 раствора соляной кислоты



Как видно из этой формулы йод освобождается в эквивалентном количестве при помощи соляной кислоты. Поэтому n/100 раствор йода получается, если взять в мерную колбу, емкостью в 50 к. с. 1,0 к. с. 2% йодоватокислого калия, 2,0 гр. йодистого калия и 5 к. с. n/10 нормального раствора соляной кислоты и объем жидкости довести до знака, т. е. до 50 к. с. дистиллированной водой.

Индикатор, 1% раствор крахмала. (amylum soluble), готовится на насыщенном растворе хлористого калия, при этом условно от безгранично прочень.

Так как образующаяся при кипячении с сахаром раствора Bang'a хлористая закись меди легко окисляется на воздух, то необходимо при охлаждении раствора и при титровании йодом, прекратить к ней доступ воздуха. Это достигается следующими приспособлениями. Мидный раствор кипятится в колбочке ланского стекла емкостью в 50 к. с. с шейкой без отогнутых краев. На шейку одета на одну треть толстая резиновая трубка в 5 сант. длиной, которая и зажимается при окончании кипячения Моревским зажимом, затем колба снимается с огня и охлаждается в проточной воде. Таким образом, избегается окисление одноклористой меди при охлаждении. Чтобы защитить раствор от окисления воздухом во время титрования необходимо или очень быстро титровать, или титровать в струе углекислоты. Источником которой может быть или Кипновский аппарат или бомба с углекислотой.

Далее продолжительность нагревания оказывает влияние на величину редукции, а потому она должна быть одинакова при различных исследованиях. Поэтому требуется нагревать на таком пламени, которое доводило бы жидкость до кипения

через 1 1/2 минуты. Кипение при той же силе пламени должно продолжаться 2 минуты. Колебания до 5 секунд не оказывают заметного влияния на величину редукции.

Что касается освобождения крови от белка то оно при микрометодѣ совершается следующим образом. Кровь в количестве 2 — 3 капель насыщается на маленькой кусочке (10 мм × 20 мм) пропускной бумаги № 264а фабрики Finbucken Stockholm. Бумажка перед насыщением крови и посѣ — выжимается на крупиных или другого рода сахара, позволяющих быстрое выжимание, таким образом, узнается объем, взятых 2 — 3 капель крови. Эту бумажку переносит в пробирку, куда затем наливается 7 к. с. вышеупомянутого кипящего раствора хлористого калия, подкисленного 2 — 3 каплями 40% уксусной кислоты. Все белки свертываются внутри и на поверхности бумаги, а сахар постепенно переходит в раствор. Через 1/2 часа диффузия заканчивается. Раствор переливают в вышеупомянутую колбочку ланского стекла; на бумажку, в которой задерживается 1 — 2% жидкости, приливают для промывания еще 4 к. с. раствора хлористого калия, встряхивают и этот раствор переливают в ту же колбочку. Рекомендуется при насыщении крови не брать ее чрезмерно много, чтобы бумага не пропитывалась до краев. Кроме того, горячий раствор хлористого калия следует приливать осторожно и не ранѣе, пока не всосется вся кровь в бумагу, для чего лучше подождать посѣ взятия крови 30 — 60 сек. Если часть белка при освобождении этих правиль отдѣлится от бумаги, то лучше жидкость отфильтровать, для чего требуется фильтр в 20 мм. в поперечникѣ.

Бумажкой предварительно выжименой, насыщается 2 — 3 капли крови (около 0,1 гр.). Посѣ вторичного выжимания бумажку опускают в пробирку и через 30 — 60 сек. осторожно приливают 7 к. с. кипящего раствора хлористого калия подкисленного 2 — 3 каплями 40% уксусной кислоты. Через 1/2 часа жидкость переливают в колбочку ланского стекла, емкостью в 50 сантиметров, а пробирку с бумажкой промывают, хорошо встряхивая, четырьмя к. с. хлористого калия, которые затем присоединяют к первым семи куб. сант. Затем приливают 3 к. с. мѣднago раствора. На шейку колбочки надвѣвается толстая резиновая трубка, и в течение около 1 1/2 мин. колбочку на мѣдной стѣлкѣ доводят до кипения,

книжки при той же силе пламени поддерживают 2 мин., после чего резиновую трубку точно зажимают Моревским зажимом, колбочку снимают с огня и охлаждают в проточной воде. Предварительно прибавив 2—3 капли крахмала, титруют в струй углекислоты $\frac{1}{100}$ раствором йода. Для титрования служит бюретка в 2 к. с. с делениями в $\frac{1}{100}$ к. с. если же употребляется $\frac{1}{200}$ нормальный раствор йода, то можно пользоваться обыкновенной бюреткой в 5—10 к. с.

При многочисленных опытах с чистым сахарным раствором оказалось, что $\frac{1}{100}$ нормального раствора йода идет на каждые 0,05 мг сахара совершенно равномерно 0,11 к. с. только на первые 0,05 мг. сахара тратится 0,18 к. с.

Эта увеличенная трата объясняется теми обстоятельствами, что медно-солевой раствор сам по себе связывает, правда немного (именно 0,08—0,10 к. с.) $\frac{1}{100}$ раствора. Таким образом в конце концов на первые 0,05 мг. идет даже меньше йода, чем на последующие. Это же и должно было ожидать, т. к. в каждом растворе содержится воздух, который при кипячении постепенно начинает выделяться и проводить окисляющее действие (вследствие чего на первые 0,05 мг. сахара идет меньше йода).

Таким образом на

0,05 мг. сахара тратится в среднем 0,18 к. с.

0,10 " " " " " 0,26

0,15 " " " " " 0,36

Далее же на каждые 0,05 мг. сахара требуется 0,11.

0,20 " " " " " 0,17

0,25 " " " " " 0,58

0,30 " " " " " 0,69

1,0 " " " " " 2,25

1,50 " " " " " 3,40

Из приведенных чисел видно, что на первые 0,15 мг. сахара против общей нормы пошло больше на 0,03 п/100 раствора йода, что соответствует приблизительно 0,01 мг. сахара, а потому, чтобы узнать сколько мг. сахара соответствует потраченному количеству п/100 йода, нужно разделить его на 2,2 и из частного вычесть 0,01 мг. Например, потрачено 0,58 п/100 раствора йода следовательно (0,58 : 2,2) — 0,01 = 0,25.

Макрометод Banga.

Этот же метод может быть применен и для больших количеств сахара, не превышающих впрочем 10 млтр. Поэтому крови требуется от 2 до 10 к. с.

Конечно, освобождение от белка должно совершаться не по рекомендованному для микрометода способу, а по какому либо из существующих, описанных выше, способом освобождения крови от белка.

Из освобожденной от белка крови берется 38,5 к. с. и помещается в колбочку Гейслера стекла емкостью в 100 к. с., после прибавления 16,5 к. с. основного медного раствора и 11,5 грамм хлористого калия, колбочку ставят на медную сетку и 3 минуты кипятят, причем время нагревания до начала кипения должно равняться 3,5—3,75 минуты. Для избежания окисления во время охлаждения принимают те же меры предосторожности, что и при микрометод.

Так как жидкость после охлаждения медленно окисляется, то при титровании вполне можно обойтись без тока углекислоты. В качестве индикатора употребляется тот же раствор крахмала, но в количестве 0,5—1,0 к. с.

Титровать можно или п/100, или п/25, или п/10 раствором йода, причем выгода большого разведения заключается в том, что перемена цвета при окончании реакции происходит от 2—4 капель, тогда как при п/25 растворе йода уже одна капля производит оканчивание реакции; таким образом избыток даже 3—4 каплей при п/100 растворе не оказывает особого влияния на точность определения. Больше же крахмале раствору йода удобнее в том отношении, что они при титровании без тока углекислоты даже больших количеств (8—10 мг) сахара продолжают равномерно увеличиваться, и разность между величиной их и величиной последнего количества раствора йода при титровании в том углекислоты, меньше той, которая наблюдается при употреблении п/100 раствора йода. Кроме того, п/10 раствор, приготовленный на кипяченой дистиллированной воде и хранящийся в темной стекляшке, остается прозрачным в течение около трех месяцев.

В общем каждому миллиграмму сахара приблизительно соответствует п/100 раствора йода—2,75 к. с., п/25—0,7 к. с. и п/10—0,285 к. с., поэтому число раствора йода надо разделить

на соответственный фактор, чтобы узнать количество сахара. Точность определения при этом способе достигает до 0,1 мг.

Вследствие микрометод автором были несколько видоизменены, с целью повысить его чувствительность. Что касается собственно определения сахара, то здесь введены следующие изменения.

Вместо 3 к.с. мѣдного раствора употребляется 1 к.с., а количество раствора хлористого калия соответственно увеличивается на 2 к.с., таким образом вследствие первоначально большей блѣдности конец реакции становится болѣе рѣзким.

Уменьшение количества мѣдного раствора не влечет за собой уменьшения сахарного раствора, но вследствие уменьшающейся при этом количества концентрации щелочи, пришлось уменьшить количество кислоты, применяемой для свертывания крови внутри бумаги. Ранѣе употреблялось 3 капли 10% уксусной кислоты, т. е. около 50 мг. ея, ихъ вполнѣ замѣняютъ 2,5 мг.—5 мг. соляной кислоты, въ каковомъ количестве она не влечет за собой потребления йода, на окраску раствора и хорошо свертываетъ бѣлки въ бумагѣ.

Вместо п/100 раствора йода, ввиду уменьшения количества мѣдного раствора, необходимо пользоваться только 200 п растворомъ его.

Далѣе вмѣсто шведской бумаги отдающей при новыхъ условияхъ часть бѣлка, употребляется особый родъ английской, которую можно получить уже нарѣзанною въ пачкахъ по 100 листовъ у Grave, Stockholm.

Улучшена крутильные вѣсы, позволяющая теперь отвѣшивать съ точностью до 0,2 мг., Моравскій зажимъ замѣненъ Банговскимъ видоизмѣненнымъ пинцетомъ. Обязательно должна применяться микробиретка съ дѣлениями въ 1/100 к.с.

Благодаря всѣмъ этимъ улучшениямъ чувствительность и точность реакции повысилась; каждому 0,01 мг. соответствуетъ точно 0,04 к. с. п/200 раствора йода, конецъ реакции же узнается съ точностью до 0,005 мг., такъ какъ одна капля микробиретки равняется 0,02 к. с. п/200 раствора йода. Только коли-

чества п/200 йодного раствора, соответствующее первымъ 2-мъ центимиллиграммамъ сахара не подчиняется этому правилу, такъ какъ разница между количествомъ йодного раствора, соответствующимъ имъ, и количествомъ йодного раствора, связываемымъ самымъ мѣдно-солевымъ растворомъ, не велика. Поэтому приходится изъ количества, употребленного раствора йода, вычитать 0,12 к. с. соответственно величинѣ потребления йода мѣдно-солевымъ растворомъ и разность разделить на 4, чтобы узнать количество миллиграммъ сахара.

Получаемая, такимъ образомъ, по улучшенному микрометоду, какъ и по старому способу величины сахара отличаются отъ величинъ получаемыхъ при микрометодахъ 0,015%.⁴

Эта разница объясняется тѣмъ, что въ солевой растворъ изъ 0,1 гр. крови диффундируетъ, кромѣ сахара, еще вещества связывающія йодъ. Количество ихъ всегда постоянно оно одинаково, какъ у диабетиковъ, такъ и у здоровыхъ людей, не находится также въ связи съ содержаниемъ въ крови жира. При освобожденіи крови отъ бѣлка другими способами, очевидно, эти вещества осаждаются вмѣстѣ съ бѣлками. Количество этихъ веществъ, получаемое при микрометодѣ, т. е. изъ количества крови въ 1,0 гр., связываетъ 0,06 к. с. п/200 раствора йода, или другими словами соответствуетъ 0,015 гр. сахара, т. е. разницѣ въ величинѣ определения сахара, получаемой микрометодомъ и прочими способами.

Такимъ образомъ при последнемъ видоизмененіи микрометода исследование совершается слѣдующимъ образомъ.

Кровь насыщается въ количествѣ 0,10—0,15 гр. на английскую пропускную бумагу, величиной въ 16 × 28 mm. Вырѣзаннымъ бумагу передъ и послѣ насыщения узнается вѣсъ крови. Бумажку помѣщаютъ въ пробирку, куда затѣмъ наливаютъ 6,5 к. с. кипящаго раствора хлористого калия (растворъ состоитъ изъ 1360 к. с. насыщеннаго раствора хлористого калия, 640 к. с. дистиллированной воды и 1,5 к. с. 25° соляной кислоты). Черезъ 1/2 часа жидкость переливаютъ въ колбу, въ 50 к. с. емкостью бумажку, находящуюся въ пробиркѣ промываютъ 6,5 к. с. раствора вышеупомянутого хлористого калия, и жидкость снова переводятъ въ колбочку. На шейку одѣваютъ резиновую толстую трубку и Банговскій пинцетъ, который послѣ 2 минутнаго кипяченія зажимаютъ и содержимое колбы охлаждаютъ въ проточной водѣ. Прибавляютъ 2—3 капли 1°

крахмала и титруют 0,200 раствором йода, в струе углекислоты.

Качественная проба Банга на сахар.

Банг предлагает применить способ освобождения крови, предложенный им для микрометода, и для качественной пробы на сахар в крови, позволяющий приблизительно судить о количестве сахара в ней, что для практической цели часто бывает достаточно.

В моче редукционными пробами можно обнаружить сахар в концентрации превышающей 1—1000, т. е. в ней содержатся различные вещества, препятствующие выделению закиси меди; для солевой вытяжки сахара из крови можно ожидать большой чувствительности, т. е. она таковых веществ не содержит; действительно, в ней реакции становится положительной при разведении 1,5—50.000.

Так как употребляется для качественной пробы выдержка сахара из 0,1 г. крови нитро куб. сант. последяного раствора хлористого калия, то следовательно положительная реакция получится при концентрации сахара в крови 0,15%.

Таким образом отрицательная реакция свидетельствует о нормальной концентрации сахара или о гипоглюкемии ниже 0,15%.

Методика этой реакции следующая: 2—3 капли, весом около 0,1 г. крови, помещаются пропускной бумажкой, и помещаются в пробирку, куда приливает осторожно 5 к. с. кипящего раствора хлористого калия подкисленного озонной кислотой. Встряхивают жидкость, наклоня до 30° пробирку. Через 1/2 часа извлечение конилось и с жидкостью производится Фелингова реакция, именно прибавляется 2 капли голубого раствора и 5 капель бѣлаго, 1/2 минуты кипятят, и через 2 минуты рассматривают результаты: при 0,15% сахара наблюдается только красноватый или фиолетовый оттенок; при рассматривании в отраженном свете на темном фоне, осаждение ее совершается медленно. Истине реакция становится при 0,2% и ѣзкое обезцвѣчивание при 0,3%, причем, осаждение в этом случае совершается очень быстро.

Итак, недостатком этой реакции является то обстоятельство, что она получается при больших степенях гипер-

глюкемии. Затѣм при ней невозможно судить также о степени гипоглюкемии.

Поэтому Nicolaus Roth предлагает насасывать не 3 капли в пропускную бумагу, а 4—при этом условии она будет появляться при концентрации сахара в 0,12%, каковая величина стоит почти на границѣ между нормальным и повышенным содержанием сахара.

Для оценки же степени гипоглюкемии, онт предлагает дополнить вытяжку каплями 0,015% сахара; так как при нормальном содержании сахара в крови требуется в вытяжку из 3 капель крови добавить 4—5 капель этого раствора, то чтобы получить положительную реакцию, для гипоглюкемии, потребуется тѣм больше капель, чѣм выше ее степень.

Способъ Oscar Kraus и Max Adler.

O. Kraus и M. Adler предложили вчать для определения сахара в маломъ количестве крови методъ Фелинга.

Так как каждый кубический сантиметръ Фелингова раствора соответствует 4,75 mg сахара, в то время, как в 1 к. с. крови находится около 0,8 mg. сахара то ясно, что прямое определение по Фелингу сахара в крови было бы не точно.

Означенное затруднение авторы обошли разведением Фелингова раствора приблизительно 10 раз; причем титр его определяют 0,4% раствором виноградного сахара.

Для определения титра в фарфоровую чашку, емкостью около 300 к. с., наливают 3 к. с. 0,4% раствора сахара (содержащаго следовательно 12 mg.) и 20 к. с. в 10 раз разведеннаго Фелингова раствора (т. е. соответствующаго 9,5 mg); в течение 3 минутъ жидкость кипятят и при продолжающемся равномерномъ кипяченіи прибавляют до тѣх поръ разведеннаго в 10 разъ раствора Фелинга каплями из шпѣтки, дѣленной на 100 к. с., пока верхній слой жидкости не освободится совершенно отъ осадка и сразу не сѣдается голубоватымъ (если прибавят затѣм 1 каплю 0,4% сахарнаго раствора, то этот чѣвъ снова исчезает). Для того чтобы лучше замѣнить эту перемѣну цвета, рекомендуется рассматривать верхній прозрачный слой, наклоня чашку.

Изъ количества пошедшаго раствора Феллинга на 3 к. с. сахарнаго раствора легко рассчитать, какому количеству сахара соответствуетъ каждый кубической сантиметръ его.

Затѣмъ къ прозрачному, не содержащему бѣлка фильтрату 1 к. с. крови, снова прибавляютъ 20 с. Феллингова раствора, (верхній прозрачный слой станетъ, конечно, болѣе сильно окрашеннымъ въ голубой цвѣтъ, т. к. находится значительный избытокъ Феллингова раствора) и кипятятъ. При постепенномъ кипяченіи прибавляютъ изъ шпешки съ дѣлениями въ $\frac{1}{100}$ к. с. 0,4% сахарнаго раствора до обезцвѣиванія.

По только что опредѣленному титру Феллингова раствора уже знаютъ, сколько м.г. сахара соответствуетъ 20 к. с. его; изъ него вычитаютъ количество пошедшаго сахара до обезцвѣиванія. Разность показываетъ количество сахара въ 1 к. с. крови.

Этотъ способъ по мнѣнію самого автора представляетъ тотъ существенный недостатокъ, что трудно опредѣлить конецъ реакціи, заключающейся въ обезцвѣиваніи и безъ того слабо окрашеннаго раствора Феллинга вследствие 10-кратнаго разведенія; кромѣ того, конецъ реакціи маскируется выпадающей красной закисью мѣди.

Поэтому О. Сгаусъ предложилъ новый способъ, который имѣетъ болѣе рѣзкій конецъ реакціи, благодаря тому, что при новомъ способѣ при редукціи не получается осадка закиси мѣди, препятствовавшаго въ старомъ методѣ опредѣленію конца реакціи.

Для достиженія этой цѣли онъ примѣнилъ фактъ, использованный Ванг'омъ и Бенедик'омъ въ ихъ методѣхъ, именно, что въ растворахъ сѣрнистой мѣди, содержащихъ только углекислыя щелочи, получающаяся при редукціи закись мѣди въ случаѣ присутствія роданиста калия, выпадаетъ въ видѣ бѣлой роданистой закиси мѣди, но что послѣдняя остается въ растворѣ, если находится избытокъ роданиста калия.

Для новаго метода требуется растворъ 0,165% винограднаго сахара, къ которому прибавляется для прочности одинъ кристаллъ тимола.

Титрованіе сахарнымъ растворомъ производится изъ микробюретки съ дѣлениями въ $\frac{1}{100}$ к. с.; такъ какъ каждая ея капля соответствуетъ 2 дѣлениямъ, то слѣдовательно при ти-

трованіи 1 к. с. крови 3 капли, этого раствора соответствуетъ 0,01% винограднаго сахара.

Затѣмъ требуется мѣдный растворъ, содержащій въ литрѣ общаго объема 2,0 гр. $(\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O})$ сѣрнистой мѣди, роданистаго калия 400,0, кальцинированной соды 12,0, лимоникислаго натрія 2,0 и 5 к. с. 5% желтой кровяной соли. Растворы приготовляются слѣдующимъ образомъ. Мѣдный купоросъ химически чистый, точно отвѣшивается и растворяется въ 100 к. с. воды. Остальныя вещества растворяются при кипяченіи прибавляемымъ въ 600 к. с. дистиллированной воды. Къ нимъ послѣ охлажденія и фильтрованія при непрестанномъ покачиваніи прибавляютъ мѣдный растворъ и 5 к. с. 5% желтой кровяной соли. Объемъ точно доводится до 1 литра. Растворъ не разрушается при долгомъ стояніи.

Анализъ распадается на 2 части: на установку титра сахарнаго раствора, которую надо производить время отъ времени и на опредѣленіе сахара въ крови.

Установка титра.

Въ стаканъ емкостью въ 100 к. с. шпешкой наливается 25 к. с. мѣднаго раствора и 25 к. с. дистиллированной воды и кипятятъ на мѣдной сѣлкѣ. Когда растворъ закиснетъ, то изъ микробюретки приливаютъ 0,165% растворъ сахара, при этомъ первыя три к. с. можно приливать сразу, послѣ чего требуется кипятить 2 минуты, затѣмъ четвертый необходимо уже приливать осторожно: сначала по двѣ капли, а потомъ даже по одной, каждый разъ при этомъ кипятя по $\frac{1}{2}$ минуты. Конецъ реакціи обозначается наступленіемъ канареечно-желтаго окрашиванія. Въ случаѣ сомнѣнія отмѣчаютъ количество нарастающаго сахара и приливаютъ по каплѣ сахарнаго раствора, опять такъ кипятя по $\frac{1}{2}$ минуты. Если дальнѣйшаго измѣненія цвѣта не получается, то эти капли, конечно, въ счетъ не идутъ.

При этой поправкѣ 25 к. с. мѣднаго раствора должны редуцироваться 3,36 к. с. 0,165% раствора сахара, т. е. 0,05 г. сѣрнистой мѣди для своей редукціи требуетъ 0,0055 г. сахара. Рекомендуется временно пробовать титръ, и если окажется, что для редукціи 25 к. с. потребуется болѣе, чѣмъ 3,36 к. с., то слѣдовательно растворъ испорченъ.

Определение в крови сахара.

25 к. с. мѣднаго раствора кипятятся въ стаканѣ. Какъ скоро растворъ закипитъ, его снимаютъ съ огня и фильтруютъ къ нему отстаивающую послѣ обработки крови для освобожденія ея отъ бѣлка прозрачную жидкость. Осадокъ дважды промывается горячей водой. Количество кровяного фильтрата не должно превышать 25 к. с., такимъ образомъ объемъ жидкости при определѣнии сахара въ крови долженъ равняться объему жидкости при предварительномъ титрованіи.

Такъ какъ при изслѣдованіи крови не извѣстно количество сахара, то мы теперь при постоянномъ кипяченіи больше осторожно призываемъ сахарный растворъ, чѣмъ при предварительной установкѣ титра. Причемъ эта осторожность должна быть тѣмъ больше, чѣмъ сильнѣе предполагается гипергликемия. Такъ какъ даже въ тяжелыхъ случаяхъ диабета обычное содержаніе сахара въ крови не превышаетъ 0,4%, т. е. въ 1 к. с. ея—находится не выше 4 mg сахара, то можно одинъ куб. сан. сахарнаго раствора приливать сразу, достѣ чего сахарный растворъ сълѣдуетъ приливать по 2 капли, а затѣмъ и по одной, все время кипятя по $\frac{1}{2}$ минуты, пока не наступитъ канаречно-желтое окрашиваніе.

Разность между количествомъ сахара, требующимся для редукиці 25 к. с. мѣднаго раствора и пошедшимъ теперь показываеъ количество сахара въ крови.

Освобожденіе крови отъ бѣлка совершается 10% диализированной коллоидальной окисью желѣза въ присутствіи сѣрнокислаго калия, но, въ отличіе отъ способа Michaelis'a и Rona, при нагреваніи.

1 к.с. крови, взятый шпателью съ дѣленіями въ $\frac{1}{100}$ к.с. помѣщается въ стаканчикъ, шпателью трижды промывается водой, которая присоединяется къ крови; прибавляютъ затѣмъ насыщеннаго раствора сѣрнокислаго калия (2—3—5 к.с.) и при осторожномъ постоянномъ кипяченіи каплями коллоидальную окись желѣза до тѣхъ поръ, пока при быстромъ снятіи съ огня не станетъ быстро осаждаться клейкій осадокъ, а сверху стоящая жидкость не слѣдается совершенно прозрачной.

Нагреваніе, которое было предложено М. Adler'омъ не разрушаеъ сахара, способствуетъ болѣе быстрому осажденію

бѣлка, осадокъ становится болѣе сжатымъ и легче удается вымыть изъ него сахаръ небольшими порціями воды.

Колориметрическіе методы.

Рубиновые способы отличаетъ отъ редукированныхъ тѣмъ, что они опредѣляютъ не только глюкозу; но и всѣ вообще углеводы. Этѣхъ способовъ два: Reicher и Stein'a и Wacker'a. Способы Reicher и Stein'a.

Онъ основанъ на качественной фурфуроловой пробѣ Mo-lisch'a. Эта реакція сопровождается появленіемъ краснаго окрашиванія при смѣшеніи сахара, сѣрной кислоты и α -naph-to'l'a. Udransky подлѣ Treupel, Posner и Elstein пытались примѣнить для количественнаго опредѣленія сахара въ мочѣ эту реакцію, Udransky, а также Emmet и Mylius объясняютъ образованіемъ фурфурола, который даетъ красное окрашиваніе съ α -naphтол'омъ. Neuberg установилъ, что трактуемая окраска получается отъ всѣхъ углеводовъ и ставилъ ее въ связь съ образованіемъ oxymethylfurfuro'l'a. Къ такимъ же даннымъ пришли Alberda, von Ekenstein и Blanksma.

Чувствительность этой реакціи чрезвычайно высока, достигаеъ до 0,001 mg. сахара.

При изслѣдованіяхъ Reicher'a и Stein'a оказалось, что интенсивность окраски зависитъ не только отъ количества сахара, но и отъ другихъ условій.

Особенно большое значеніе имѣетъ t, причемъ постоянные результаты получаютъ, если реакція протекаетъ въ теченіе 3—4 минутъ при 74—78°. Поэтому важно смѣшеніе сѣрной кислоты съ углеводистой жидкостью производить въ определенныхъ отношеніяхъ и съ извѣстной скоростью. Количество сѣрной кислоты должно превышать количество углеводистой жидкости по крайней мѣрѣ въ 3 раза.

Количество α -naphтол'а также имѣетъ существенное значеніе на степень окраски. При содержаніи сахара до 1 mg. интенсивность окраски остается одинаковой, если примѣнять α -naphтол' въ количествѣ между 0,03 г. и 0,06 г. При большихъ величинахъ окраска сильно уменьшается, а при высшихъ становится желтой.

Точно также при изслѣдованіи оказалось, что, для полученія одинаковой степени окраски, нельзя примѣнять алко-

гольные растворы α -naphthol'a, какъ и растворы α -naphthol'a въ сѣрной кислотѣ, быстро теряютъ свое дѣйствіе. Поэтому теперь применяются таблетки α -naphthol'a въ 0,05 gr.

Что касается освобожденія крови отъ бѣзка, то авторы примѣнили способъ Michaelis и Rona. Но, такъ какъ продажная коллоидальная окись желѣза содержитъ примѣсь хлорнаго желѣза иногда до 0,5%, которая оказываетъ вліяніе на реакцію съ α -naphthol'омъ, они советуютъ притовлять ее саміимъ или же продажный препаратъ подвергать діализу, причемъ по истеченіи 3 сутокъ хлорнаго желѣза остается не болѣе 0,08%, каковое количество не вліяетъ на реакцію.

Итакъ, производство опредѣленія количества сахара по методу Reicher'a и Stein'a совершается слѣдующимъ образомъ.

2 к. с. крови наливаютъ въ пробирку съ притертой пробкой, измѣющую 5 дѣлений, соответствующихъ 5 к. сант. каждое, и дистиллированной воды до знака 10 к. сант., затѣмъ при 1—2 к. сант. насыщеннаго раствора сѣрнокислаго калия и осторожно 5—7 к. сант. Liq. ferri oxydati dialysati (Merck); Наконецъ объемъ доводятъ дистиллированной водой до 20 к. сант. Сильно встряхиваютъ, причемъ о совершившемся освобожденіи отъ бѣзка узнаютъ изъ того, что вначалѣ глухой звукъ при встряхиваніи становится ясно металлическимъ. Фильтруютъ черезъ маленький складчатый фильтръ, причемъ перья капли слѣдуетъ отбросить.

Теперь градуированная пробирка до знака 10 к. с. наполняется крѣпкой сѣрной к-той уд. в. 1,84 (Kahlbaum) Въ сѣрную к-ту бросается таблетка α -naphthol'a въ 0,05 gr. (Kiedel) и затѣмъ приливаетъ очень медленно по стѣнкѣ кося поставленной пробирки 2 к. с. фильтрата, свободнаго отъ бѣзка, изъ пипетки, наблюдая затѣмъ, чтобы нижній конецъ ея какъ разъ находился надъ уровнемъ жидкости.

Наконецъ берутъ пробирку за верхній край между большимъ и указательнымъ пальцами правой руки и приводятъ въ вращательное движеніе, сначала медленное и затѣмъ постепенно ускоряющееся. Вращаютъ до тѣхъ поръ, пока образующеся на границѣ соприкосновенія ярко красное кольцо не достигнетъ основанія, для чего требуется около $\frac{1}{2}$ минуты. При правильномъ исполненіи этихъ предписаній въ смѣсь получается требуемая t° 76°—78°.

Остающаяся на стѣнкѣ пробирки надъ жидкостью крупицы α -naphthol'а смываются наклоненіемъ пробирки.

Затѣмъ, закрывъ ее прищипованной стеклянной пробкой, оставляютъ охладиться при комнатной t° и наконецъ наполняютъ до знака 20 концентр. сѣрной к-той. Сжигание производятъ многократнымъ наклоненіемъ въ ту и другую сторону пробирки, наблюдая при этомъ, чтобы не образовалась гѣба.

Сравнительный растворъ устанавливается точно также только вмѣсто кровяного фильтрата берется 2 к. с. 0,02 вии. сахара.

Въ качествѣ колориметра особенно рекомендуются хромофотометръ Пашеа.

Устройство этого прибора основано на томъ, что при равенствѣ степени окраски жидкой количество красящаго вещества обратно пропорціонально толщинѣ слоя ихъ. Поэтому придавая въ этомъ приборѣ разную толщину слоя жидкости можно добиться одинаковой окраски; зная толщину слоя ихъ и концентрацію сравнительнаго раствора (который въ данномъ случаѣ равняется 0,02%) можно легко вычислить количество красящаго вещества въ испытуемой жидкости.

Удобнѣе для вычислванія наливать сравнительный растворъ въ подвижную кюветку, благодаря чему можно измѣнить толщину слоя его, а испытуемому въ неподвижную, толщина слоя которой равняется 20 mm., при соблюденіи этихъ условій толщина слоя сравнительнаго раствора, которую ему пришлось придать для достиженія одинаковой степени окраски, прямо указываетъ содержаніе сахара въ испытуемой жидкости про mille, такъ какъ, обозначивъ черезъ x количество mm. толщины слоя сравнительнаго раствора, черезъ x содержаніе сахара въ испытуемой жидкости, мы получимъ.

$$\frac{x}{0,02} = \frac{a}{20} \quad x = \frac{a \cdot 0,02}{20} = \frac{a \cdot 0,01}{10} = 0,001 a$$

Остается прибавить, что сѣрная кислота должна быть предварительно профильтрована, именно: она не должна давать зеленого или краснаго окрашиванія при смѣшеніи съ α -naphthol'омъ и водой.

Такъ какъ сравнительный сахарный растворъ быстро портится, то Reicher и Stein предложили приготовить ра-

створь из 2,0 декстрозы, и 100,0 сѣрникоислаго цинка (Zinc sulfur, pur pro analysis) въ литрѣ воды, зтоѣ основной растворъ каждый разъ для изслѣдованія разводится въ 10 разъ. Цинкъ не препятствуетъ колориметрическому опредѣленю. Между тѣмъ основной растворъ остается неизмѣненнымъ 2—3 недѣли.

Методъ Wacker'a

Методъ Wacker'a основанъ на цѣтовой реакціи (поясненіе), образуемой при дѣйствіи на углеводы, альдегиды и алкогولى въ присутствіи щелочи параформилгидразинсульфокислоты. Слѣдовательно, и при зтой реакціи, какъ и при предыдущей, опредѣляются все находящіяся въ крови углеводы.

Повидимому, при дѣйствіи на углеводы параформилгидразинсульфокислоты образуется гидразонъ или гидразонъ, изъ котораго уже самоокисленіемъ получается красное красящее вещество. При отсутствіи углеводовъ или въ случаѣ избытка гидразина, послѣдній окисляется въ желтый цвѣтъ, зто самоокисление протекаетъ очень медленно и потому замѣтне при незначительномъ содержаніи сахара.

Въ виду того, что чистые растворы сахара, служаще для сравненія, значительно медленнѣе окрашиваются, чѣмъ пробы съ сахаромъ, извлеченнымъ изъ крови, то приходится выждать 4 часа, послѣ чего можно только приступить къ сравненю.

Кожу пальца, изъ котораго берется кровь, обязательно нужно очистить толуоломъ, и послѣ того, какъ она обсохнетъ, берется 10 свободно упавшихъ капель крови или отсаиваются 15 капель ея, такъ какъ отпавшія самостоятелно капли тяжелѣе. Капли крови помѣщаются при легкомъ встряхиваніи въ предварительно вывшиную широкоротую Эрленмейеровскую колбу съ притертой пробкой, содержащую 15 к. с. дистиллированной воды. При зтомъ кровь закирывается. Новымъ вывшинѣемъ узнается вѣсъ, ватной крои съ точностью до 4 десятичнаго знака. Очищать палецъ спиртомъ и зирромъ нельзя, такъ какъ они даютъ красное окрашиваніе съ параформилгидразинсульфокислотой.

Освобожденіе отъ бѣлка.

Прибавляютъ къ лакированной отъ дистиллированной воды крои 1 к. с. раствора желѣзо-каліиныхъ квасцовъ.

(300 гр. кристалл. квасцовъ — $\text{FeK}(\text{SO}_4)_4 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$ — на 110 гр. дистиллированной воды) или 10% раствора кристаллическаго сѣрникоислаго цинка; оставляютъ спокойно стоять 2 минуты и затѣмъ медленно приливаютъ 2 к. с. 5,3% раствора кальцинированной соды. (Кальцинированная сода получается прокаливаніемъ двууглекислой соды въ платиновомъ тиглѣ). Послѣ прибавленія соды реакція должна быть по крайней мѣрѣ нейтральная, если же остается кислой, то слѣдуетъ прибавить до получения нейтральной реакціи точно измѣренное количество соды. Послѣ прибавленія соды оставляютъ стоять 15 минутъ и затѣмъ фильтруютъ черезъ складчатый фильтръ отъ обвѣшенныхъ бѣлковъ. Фильтратъ не долженъ давать осадка отъ желтой кровяной соли и уксусной кислоты.

Приготовленіе цѣтовой скалки.

Она готовится изъ различныхъ количествъ отъ 0,5 к. с. до 8 к. с. точно приготовленнаго 0,1% раствора винограднаго сахара. Вся цѣтовая лѣтница имѣетъ 16 ступеней, каждая ступень на 0,5 к. с. 0,01% раствора, т. е. на 0,05 мг. сахара выше предыдущей.

Растворъ винограднаго сахара должно готовить изъ химически чистаго винограднаго сахара, высушеннаго въ течение нѣсколькихъ дней въ вакуумѣ эксикаторѣ надъ хлористымъ кальціемъ.

Платк., въ 16 одинаковыхъ цилиндровъ (имѣющихъ высоту 130 мм., ширину—31 мм. и толщину стѣнок—1,5 мм.) наливается отъ 0,5 к. с. до 8 к. с. 0,01% раствора винограднаго сахара и въ каждомъ цилиндрѣ объемъ жидкости доводится дистиллированной водой до 10 к. с., для контроля реантентовъ одинъ цилиндръ наливается 10 к. с. воды. Затѣмъ одинъ цилиндръ наполняется 10 к. с. фильтрата, полученнаго послѣ обработки воды при соблюденіи тѣхъ же правилъ и тѣмъ же реактивами, которые были применены для освобожденія крои отъ бѣлка. Последняя проба ставится потому, что означенные реактивы сами по себѣ вызываютъ также красное окрашиваніе. Наконецъ, въ остальные цилиндры (6—7) наливаютъ изъ различныхъ пробъ крои по 10 к. с. фильтрата, свободнаго отъ бѣлка. Такимъ образомъ можно провести 6—7 одновременныхъ опредѣленій.

Прибавляют в каждый цилиндр по 0,04 гт. парафенилгидразисульфокислоты, а так как во всех пробх ищется около 25, то рекомендуется растворить 1,0 гт. ее при прибавлении 1 к. с. натральной щелочи удльнь. ввса 1,4 иьсколькo больше, чьм в 50 к. с. воды. Изв свьже-приготовленного таким образом раствора прибавляют по 2 к. с. вь каждый цилиндр и наконец принавают по 2 к. с. натральной щелочи удльнь. ввса 1,4. Хорошо встряхивают и ветряхивание вь течение первого часа производят через 10 мин., а затьм время оть времени ветряхивание повторяют. Эти ветряхивания иьвют цьлью равномерное течение окисления жидкости подь влиянием воздуха.

Сравнение вьдствие неодинаковой быстроты наступления окраски вь пробхх сь чистым виноградным сахаром и пробхх сь кровным фильтратом приходится производить только через 4 часа. Сравнивают цвьт на бьлом фоне, пользуясь по возможности свьрхним свьтлм. Окраска, получающаяся между отдельными ступенями цвьтовой льстницы, напр., между 3,0 к. с. и 3,5 к. с. сахарного раствора, оцньвается равной 3,25 к. с. сахарного раствора. Рекомендуется брать столько крови, чтобы сравнение происходило между 2,0 и 5,0 к. с. сахарного раствора.

Если, вьдствие неполного освобождения оть бьлков, окраска фильтрата крови получится желте окраски скалы, то сравнение не возможно. Вь такихь случаях сльдует кь каждой пробь прибавить по 2 к. с. водного раствора красной соли (0,3—53,0 воды) и немедленно сравнивать, иначе же красная кровяная соль при долгом стоянии производит неодинаковыя изменения цвьта.

Так как фильтрат оть воды, обработанной реагентами, служащими для освобождения оть бьлка крови, дает при дьйстви щелочи и парафенилгидразисульфокислоты красное окрашивание, то требуется сравнить его сь окраской скалы, высчитать, какому количеству сахара онь соответствует и вычисть изв найденной для кровного фильтрата величины сахара.

Причем при иьсчитывании нужно помнить, что количество сахара опредьляется только вь 10 к. с. фильтрата, что соответствует не всей взятой крови, а части ее.

Так как сь одной стороны скала содержит оть 0,05 мгл. сахара до 0,8 мгл. сахара, сь другой стороны берется не весь фильтрат, а только 10 к. с., причем изв найденного при этомь количества сахара приходится вычисть количество сахара, соответствующее окраскь, зависящей оть осадителей, то вь конць концов при помощи этой реакции, если берется крови 0,3—0,4 гт., можно узнать содержание сахара, не превышающее 0,36%. Поэтому вь случаях, превышающих эту величину, нужно брать или меньшее количество крови или развести большимь количествомь воды.

Остается добавить, что вь употребленные реагенты должны быть химически чистыми, так как иначе не получится правильныхь результатов. Продажную парафенилгидразисульфокислоту требуется очистить, так как продажный препарат, мясокрасного цвьта, сам по себь дает красное окрашивание. Очищенный препарат должень быть блестящим бьлым продуктом, растворяющимся вь щелочи сь цвьтомь слабого бьлого вина, а при разведениях, которыя употребляются вь этомь методь, должень быть совершенно безцвьтнымь, какь вода.

Шпетки, колбы, цилиндры не должны употребляться помимо этой реакции для какой-либо другой надобности. Обязательно нужно остерегаться прикосновения шпettek кь столу, кь органическому веществу и пр.

Методь Forschebach'a и Severin.

Этоть методь является сь одной стороны цвьтовымь, но сь другой стороны редуционнымь т. е. онь стоит на граници между двумя группами методев.

При немь увеличивается степень побьдствения I Банговского раствора посль присоединения редуци подь влияниемь сахара сь первоначальнымь цвьтомь.

Такимь образом при помощи этого метода узнается только количество редуцирующихь веществ, а не вьсхх вообще углеводов, какь при колориметрическихь иьсльдованиях. На другое выгодное отличие оть колориметрическихь способев указывают Forschebach и Severin, заключающееся вь томь, что окрашивание здьсь зависит оть неорганического вещества, а не оть органического, поэтому цвьт получается по-

ственно одинаковый. Выгодно, следовательно, отличаться от прочих колориметрических методов он вместе с тем сохраняет свойственную им чувствительность.

Итак, в основе этого метода определения лежит изменение в смысле окраски редуцированного Банговского раствора, в котором как уже было выше упомянуто, вследствие содержания избытка роданистого калия при редукции не появляется осадка, а только раствор становится более слабо окрашенным, но совершенно прозрачным.

Ослабленный раствор содержит в литре дес. воды, очищенной по Сокслету 12,5 стронциевой мёды, 250,0 углекислого калия, 50,0 двууглекислого калия и 200,0 роданистого калия в 1 литре дистиллированной воды. Мёд растворяют в 75 сант. воды, остальные соли в 600 к. с. нагревая до 50—60°; затѣм охлаждают до 30°; мёдный же раствор до 15° и медленно его приливают; иначе происходит развитие углекислоты. Промывают колбочку и промывными водами доводят объем до 1 литра.

Авторъ способа вначалѣ этотъ методъ предложилъ для 5—6 к.с. крови, предварительно проверивши его на чистых сахарныхъ растворахъ. Сравненіе цвѣта происходитъ въ хромофотометрѣ Плена, причемъ въ неподвижную колѣтку наливаютъ исследуемый растворъ, толщина слоя его равняется 20 мм., сравнительный же растворъ, состоящій изъ Банговскаго раствора безъ сахара, въ подвижную колѣтку.

При исследованіяхъ оказалось: во 1-хъ) для 5—6 к.с. крови, содержащихъ в нормѣ около 5 мг сахара—наивысшее количество Банговскаго раствора 10 к.с.; при большихъ количествахъ его сила цвѣта мало ослабляется, а при меньшихъ количествахъ онъ вполне обезцвѣчивается, такъ что сравненіе становится невозможнымъ; во 2-хъ) чтобы не появился осадокъ хлористой закиси мёды, при кипяченіи сахара съ Банговскимъ растворомъ, оказалось необходимымъ прибавить углекислаго и роданистаго калия; въ 3-хъ) соблюденіе всѣхъ предписаній Банга относительно силы кипѣнія обязательно для полученія правильной величины редукціи; въ 4-хъ) сравнительный растворъ необходимо, какъ и исследуемую жидкость, кипятить, такъ какъ онъ при кипяченіи обнаруживаетъ самостоятельную редукцію; эта редукція постоянна:

прокипяченный растворъ Банга толщины слоя въ 20 мм. соответствуетъ по цвѣту не кипяченому толщины слоя 17,9—18 мм.

При соблюденіи всѣхъ этихъ условий оказалось, что редукція 10 к.с. Банговскаго раствора 5 мг. сахара обусловила такую степень поблѣденія его, что при 20 мм толщины слоя его онъ равняется по цвѣту 11,8 мм. сравнительнаго Банговскаго раствора. Такимъ образомъ редукція отъ 5 мг. сахара уменьшаетъ толщину слоя сравнительнаго раствора на 8,2 мм. Причемъ это уменьшеніе разности совершенно равнообразно: для каждаго миллиграмма оно равняется приблизительно 1,7 мм., только для перваго миллиграмма 1,4 мм.

Такимъ образомъ, были найдены причины толщины слоя сравнительнаго раствора по отношенію къ испытуемому, замѣчанію всегда толщину слоя въ 20 мм. и каждый разъ отличающемуся отъ предыдущаго большимъ содержаніемъ сахара на $\frac{1}{10}$ мг. Такъ какъ соответственно этому разлчію въ количествѣ сахара разности совершенно постепенно и закономерно изменялись, и такъ какъ аппаратъ позволяетъ свободно отсчитывать $\frac{1}{10}$ мм. то, следовательно, точность определения можно довести до 0,06 мг. сахара.

При дальнѣйшихъ исследованіяхъ автору удалось доказать, что, если въ 5 разъ уменьшить количество сахара, то это количество сахара одинаково сильно просвѣтлѣетъ въ 5 разъ меньшее количество Банговскаго раствора, т. е. 2 к.с. Причемъ, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 и 1,0 мг. винограднаго сахара совершенно такъ же просвѣтлѣютъ 2 к.с. Банговскаго раствора, какъ 1,2, 3, 4, 5 мг просвѣтлѣютъ 10 к.с.

Ошибка анализа возрастаетъ съ уменьшеніемъ количества сахара въ исследуемой жидкости.

при 0,2 мг.	= 3,728%
0,4 мг.	= 1,864%
0,6 мг.	= 1,243%
0,8 мг.	= 0,932%

Итакъ, метода при исследованіи небольшихъ количествъ крови представляется слѣдующей.

Уколкомъ пальца или изъ локтевой вены добытыя 1—1½ к.с. крови наливаются въ стаканчикъ для взвѣшивания съ прили-

фованной крышкой, который сь назитими 5 к.с. воды былъ предварительно взвѣшенъ. Вторичнымъ взвѣшиваніемъ узнается точно вѣсъ взятой крови. Прибавляютъ 8 к.с. Liqnor. feti oxudati dialys. Merck и 2 к.с. насыщеннаго раствора сѣриокислаго натра, отмѣчаютъ точно объемъ, который долженъ равняться 16 к.с. Возможно полнѣе перебиваютъ эту смѣсь на Бухнеровскую воронку и отсасываютъ при слѣткѣ пошженномъ давленіи, обуславливаемомъ водоструйнымъ насосомъ. Изъ фильтрата берутъ для дальнѣйшаго изслѣдованія 5 к.с. раствора, что соотвѣтствуетъ 0,2—0,3 mg. сахара. При болѣе высокомъ содержаніи сахара въ крови можно брать меньше раствора.

5 к.с. фильтрата помѣщаются въ маленькую Эрленмейеровскую колбочку, точно отмѣривается 2 к.с. раствора Банга и по 1½ мг. роданистаго и углекислаго кали. Оба препарата должны быть химически чистые, въ противномъ случаѣ получается отъ загрязненія муть, препятствующая колориметрическому изслѣдованію. Растворъ подвергаютъ кипяченію при точномъ соблюденіи предписаній Банга (именно, нагревають на мѣдной сѣткѣ, пламя должно быть такой величины, чтобы оно доводило до краснаго каленія крутъ сѣтки въ 15 mm въ диаметръ, и чтобы время нагреванія до кипѣнія равнялось 3 минутамъ. Кипятить же слѣдуетъ ровно 3 минуты).

Послѣ охлажденія въ проточной водѣ, жидкость перебиваютъ въ мѣрную колбочку емкостью въ 10 к.с. Эрленмейеровскую же колбочку повторно промываютъ 10% растворомъ углекислаго и роданистаго кали, и этой промывной жидкостью дополняютъ мѣрную колбочку до знака, т. е. до 10 к.с. Затѣмъ растворъ фильтруютъ въ подвижную колориметрическую кюветку. Сравнительный же растворъ готовится изъ 7 куб. с. дистиллированной воды, 2 к.с. раствора Банга и 1½ грамма роданистаго и углекислаго кали. Этотъ растворъ при соблюденіи тѣхъ же правилъ кипятятъ и фильтруютъ въ неподвижную кюветку. Само собой разумеется, что работа съ такими ничтожными количествами и при большой чувствительности реакціи требуетъ точности чрезвычайной.

Остается добавить, что растворъ Банга остается неиспорченнымъ по крайней мѣрѣ 2 мѣсяца и, такъ какъ углекислый калий вслѣдствіе свойственной ему гигроскопичности со временемъ становится болѣе тяжелымъ, то его количество приходится соотвѣтственно увеличивать.

Многоважаемымъ профессоромъ Академикомъ М. В. Яновскимъ было предложено мнѣ произвести одѣвку клиническихъ методовъ опредѣленія сахара въ крови, т. е. такихъ, которые позволяютъ произвести опредѣленіе въ небольшомъ количествѣ крови, и при достаточной точности были бы по возможности просты.

Ввиду того, что для изученія и проверки методовъ требуется въ общемъ большое количество крови, то ясно, что эту проверку пришлось произвести на крови животныхъ.

Причемъ, по совѣту проф. М. Д. Ильина, изученіе и проверка способа производилась сначала на точно приготовленныхъ растворахъ винограднаго сахара и затѣмъ уже въ крови.

Что касается винограднаго сахара, то для своихъ опытовъ я пользовался препаратомъ Kalibaum'a, каковой, по совѣту

Wacker'a, предварительно высушивался в вакуум эксикаторе над хлористым кальцием течение нескольких суток до постоянного веса. Раствор виноградного сахара приготовлялся каждый раз свежим, так как они непрочны. Растворы эти имели концентрацию различную, смотря по методу от 0,165% до 0,01%. Сахар точно отфильтровался на черной атласной бумаге, благодаря черному цвету ей, легко было захватить мельчайшие порошинки сахара. Необходимы количества сахарного раствора для каждого опыта измерялись точной пипеткой с делениями в 0,01 куб. сант.

При проверке редукционных методов, оказалось возможным пользоваться растворами виноградного сахара, к которым для прочности прибавлено 1—2 кристаллика тимола.

Подобным образом приготовленные растворы виноградного сахара не портятся в течение по крайней мере 2 недели, как показал опыт.

При колориметрических методах прибавление тимола не допустимо, так как он дает сам окрасивание при прибавляемых реакциях.

Reicher и Stein для своего способа рекомендуют прибавлять для прочности сернокислый цинк, который не участвует в реакции, но вместе с тем раствор не мутнеет в течение 2—3 недели.

Кровь лошадей, рогатого скота, телят, свиней и овец, привозилась с бойни, причем по совету проф. М. Д. Ильина добавлялась во избежание свертывания по 1 грамму шавелекислого натрия на литр крови.

При проверке каждого способа в крови, определялось сначала этим методом количество сахара в ней, а затем этим же методом определялось количество сахара в той же крови после предварительного прибавления к ней точно определенных количеств сахара.

Так как трудно узнать о полном растворении прибавленного сахара к крови, то прибавлялся сахар в виде кристального раствора, именно 10%, который тщательно смешивался с кровью. Таким образом, легко было высчитать, какое количество сахара находится в определенном объеме смеси. Например, если к 10 к. с. крови с содержанием сахара

в 0,07% (7 мг в 10 к. с.) прибавим 1 к. с. 10% раствора виноградного сахара, (с содержанием, следовательно 100 мг сахара) то в общий объем смеси, т. е. в 11 куб. сант. будет заключаться 107 мг сахара или в 1 к. с. 9,73 мг сахара, другими словами получим 0,973% раствор виноградного сахара.

Так как количество сахара в крови быстро уменьшается вследствие гликолиза, то каждый раз приходится определять количество сахара в ней перед приготовлением из нее более крепких сахарных растворов.

Большая часть работы, именно почти вся проверка редукционных способов проведена мной с разрешения проф. М. Д. Ильина в физиолого-химической лаборатории, колориметрические же методы были проверены мной в лаборатории при кафедре диагностики профессора Академика М. В. Яновского.

Метод Herzfeld'a.

Про метод Herzfeld'a приходится прежде всего отметить, что описание его сделано очень кратко. Автором точно не указаны условия, которые необходимо соблюдать, как при установке титра метиленовой сини, так и при определении сахара в крови. Например, не указан общий объем жидкости, при котором производится титрование. Таким образом, если следовать буквально описанию метода, то получатся разные объемы: при проверке титра от 1,5 к. с.—11,5 к. с., а при определении сахара при 15 к. с. крови около 20—30 куб. сант., при 3 к. с. около 15—20 к. с. Ясно поэтому, что в описании метода упущено это обстоятельство. Между тем, эти количества нужно еще повысить, что при объеме в 1,5 к. с. жидкости, соответствующем 1 мл. сахара затруднительно. Поэтому при определении титра метиленовой сини, и общий объем при каждом определении доводить до 30 к. с.

Требуемые этим способом реактивы 20% фукое кали и метиленовая синька 1—1000 были приготовлены первый из *kali causticum depuratum in bacillis*, а второй из метиленовой сини д-ра Гюблера.

Тщательно соблюдались все предосторожности при титровании, указанные автором, и имеющие целью предотвратить

самоокислению от соприкосновения с воздухом метиленовой сини или, по крайней мере, съдвигать его одинаковым при каждом изъясдовании, (как то ровное кипение на азбестовой сътъкъ раствора сахара съ въдой щелочью, начало титрования съ момента пожелтѣнія жидкости, приливание раствора метиленовой сини по сътънхатъ колбы во избяжание встряхивания жидкости, приливание настолько осторожное, чтобы кипѣние не прекращалось). Несмотря на всё эти предосторожности, восстановление сахаромъ метиленовой сини, подъ влияниемъ котораго она переходитъ въ безцвѣтное соединене, происходило неравномерно. Въ то время, какъ у Herzfeld'a каждому миллиграмму сахара соответствуетъ приблизительно 1,6 к. с. раствора метиленовой сини, т. е. 2-мг. mlg. сахара—въ 2 раза болѣе чѣмъ 1,6 к. с., 3-мг.—въ 3 раза болѣе и т. д. у меня получались совершенно непропорциональны числа. Такъ, что разница въ количествахъ метиленовой сини, помещенныхъ на одно и тоже количество сахара достигаетъ до 9 к. с. и хотя въ общемъ съ увеличениемъ количества сахара количество раствора метиленовой сини увеличивается, но уже изъ сказаннаго ясно, что строгой закономерности въ этомъ увеличении, подобной полученной авторомъ не получалось. (См. Т. № 1).

Очевидно автору удалось получить эту пропорциональность въ соотношеніи количества метиленовой сини и сахара, благодаря какимъ либо предосторожностямъ, о которыхъ онъ не упоминаетъ вслѣдствіе краткости описанія своего метода. Въ этомъ отношеніи возможны 2 источника ошибокъ.

Во первыхъ, при нагреваніи сахарнаго раствора съ 0,5 к. с. 20° въдой щелочи еще до кипѣнія происходитъ разрушеніе сахара, слѣдовательно при неполной одинаковой силѣ пламени количество разрушаемаго сахара, можетъ быть, тоже не одинаково. Поэтому было обращено вниманіе на то, чтобы сила пламени при всѣхъ опытахъ была одинакова, т. е. чтобы она доводила жидкость (всегда постоянный объемъ) до кипѣнія въ строго определенное время, а въдоже кали прибавлялось бы къ раствору сахара послѣ начала кипѣнія. Такимъ образомъ, въанодствіе сахарнаго раствора и въдой щелочи, до начала титрования, т. е. до появления желтаго окрашиванія всегда продолжалось въ теченіе одинаковаго для каждаго раза промежутка времени.

При этихъ условіяхъ хотя и получилось меньшее различіе въ количествахъ метиленовой сини, соответствующихъ одному и тому же количеству сахара (наибольшая разница равнялась 4 к. с. раствора метиленовой сини), но все таки пропорциональности между количествомъ метиленовой сини и количествомъ сахара не получалось, напримеръ 1-му mlg. сахара въ среднемъ соответствовать 1,35 к. с. раствора метиленовой сини, 5 же mlg. въмѣсто 6,75, какъ бы должно было ожидать, соответствовать 11,5 к. с., 10 же mlg., въмѣсто 13,5 к. с. соответствовать уже 41,2 к. с. раствора метиленовой сини (См. Табл. II).

Другой источникъ ошибки заключается въ томъ, что какъ бы осторожно не титровалъ кипящій растворъ метиленовой сини вестакъ титрование свывается на сътъкъ кипѣнія и поэтому создаются условія для окисленія воздухомъ обезцвѣченной метиленовой сини. Чтобы затруднить возможность проникновения воздуха къ кипящему раствору, титрование производилось въ Эрленмейеровской колбѣ, закупоренной резиновой пробкой съ 2 отверстиями: черезъ одно отверстие проходилъ конекъ бюретки, а черезъ другое согнута стеклянная трубка. При титрованіи сахарнаго раствора, кипящаго въ подобной колбѣ, создаются, конечно, болѣе неблагоприятныя условія для соприкосновения его съ воздухомъ. Дѣйствительно, полученныя цифры свидѣтельствуютъ о томъ, что самоокисленіе метиленовой сини существенно при этомъ затрудняется, такъ какъ 1 mlg. сахара обезцвѣчивается около 5 к. с. раствора метиленовой сини, а не 1,6 к. с., какъ показано у автора. При большихъ количествахъ сахара въ общемъ отмѣчается большая пропорциональность между количествами метиленовой сини и сахаромъ, но истинной закономерности и при этомъ условіи не получается, что и должно было ожидать, такъ какъ полное исключеніе влияния воздуха при этомъ не имѣется (см. Табл. III). Дальнѣйшихъ попытокъ улучшенія метода не было произведено. Такимъ образомъ признать способъ Herzfeld'a къ опредѣленію сахара въ крови не удалось.

Остается прибавить, что начало кипѣнія жидкости, несмотря на блѣдны низкій фонъ отъ азбестовой сътъки, трудно точно отмѣнить. Затрудненіе нѣсколько сильнѣе при искусственномъ свѣтѣ, чѣмъ при дневномъ.

Методъ Tasebau.

Всего определений по методу Tasebau было сделано шесть: 4 из них было сделано на водных растворах сахара и 2 определения было сделано из крови. При этом насколько можно судить из столь небольшого числа определений, метод оказался точным; но с другой стороны, он имѣет и слѣдующія недостатки: определение тянется нѣсколько суток, довольно хлопотливо, требует хорошо устроеннаго вытяжного шкафа, так как приходится работать съ сѣроводородомъ и сильной кислотой и для точности определения необходима сравнительно большая количества крови, именно 10 к.с. На основаніи вышеказаннаго врядъ ли можно считать этотъ методъ клиническимъ.

Исследованій съ сахарнымъ растворомъ было сделано 4 (1, 3, 5 и 10 mg). Соответственно этимъ количествамъ 0,1% раствора винограднаго сахара пришлось взять 1, 3, 5 и 10 к.с. Объемъ сахарнаго раствора доводился дистиллированной водой до 25 к.с. Изъ мѣрной колбы жидкость переливалась въ Эрленмейеровскую, вмѣстимостью около 100 к.с., мѣрная колбочка промывалась 5 к.с. дистиллированной воды, которые затѣмъ присоединялись къ сахарному раствору, и наконецъ прибавлять 10 к.с. Купферова раствора (Купферовъ растворъ состоитъ изъ 10,0 гр. высушенной въ вакуумѣ синеферидной ртути, 100 к.с. натровой щелочи удѣльнаго вѣса 1,45, т. е. содержащей 12,5% NaOH, въ литрѣ общаго объема. Растворъ очень проченъ). Эрленмейеровская колба закрывалась резиновой пробкой съ однимъ отверстиемъ, куда была вставлена длинная стеклянная трубка, и послѣ 2-хъ минутнаго кипѣнія колба охлаждалась водной струей. Затѣмъ производилось фильтрование. Точно къ 35 к.с. фильтрата въ стаканъ прибавилось 3 капли 25% соляной кислоты и 20 к.с. свѣжее приготовленной сѣроводородной воды; образованную сѣрную ртуть излькомъ пероводили при помощи продолговатаго промыванія стакана на фильтр Гуча, который послѣ многократныхъ промываній дистиллированной водой высушивался до постояннаго вѣса при 100°, и послѣ охлаждения взвѣшивался.

Такимъ образомъ, въ методикѣ, приведенной авторомъ, и отсутствіе въ 2 пунктахъ: во 1) восходящая трубка у меня не была прищипована къ колбѣ, а удерживалась при помощи резиновой пробки, и во 2) вмѣсто раздѣлительной воронки, я для определения ртути, фильтратъ помещалъ въ стаканъ, изъ котораго также вполне можно было перевести на тигель. Гуча всю образованную сѣрную ртуть, при помощи повторныхъ ополаскиваній стакана дистиллированной водой.

Всѣ перечисленныя видоизмѣненія не существенны, хотя, конечно, удлиняютъ процедуру определения, такъ что вмѣсто 30 минутъ, которая тратитъ на нее авторъ, мнѣ приходилось употреблять даже болѣе часа, не считая, конечно, времени, идущаго на высушивание и взвѣшивание.

Соответственно 3, 5, 10, 15 mg. сахара было найдено сѣрной ртути 71,2 mg., 65,0 mg., 49,5 mg., и 26,0 mg., что соответствуетъ 3,27 mg., 5,33 mg., 8,9 mg. и 15,4 mg. сахара.

Что касается 2 исследованій съ кровью, то они были произведены съ 10 к.с. ея, причемъ оба они производились одновременно для изысканія гликолиза. Одна изъ пробъ состояла исключительно изъ 10 к.с. телачьей крови, а вторая изъ 10 к.с. смѣси крови съ сахаромъ (99 к.с. крови + 1 к.с. 10% сахарнаго раствора), при чемъ въ первой найдено было сѣрной ртути 60, 6 mg., а во второй 23,5 mg., что соответствуетъ 6,69 mg., и 16,0 mg., или въ ‰ содержаніи 0,069% и 0,16%.

Такимъ образомъ, потеря при этомъ исследованіи равнялась 0,8 mg., такъ какъ по теоретическому расчету должно было быть найдено 16,8 mg.

Что касается литературныхъ данныхъ объ этомъ методѣ, то всѣ они указываютъ, что величины сахара, определяемыя по Кларку, меньше величинъ, получаемыхъ способомъ, основаннымъ на реакціи мѣди и полиризаціонными по Embden'у въ среднемъ разниця равняется 0,02%, по Griesbach'у и Strasner'у, по крайней мѣрѣ для крови собранной два приблизительно такая же. Чемъ обуславливается эта разниця, остается неизвѣстнымъ.

Методъ О. Kraus'a и М. Adler'a.

Изъ способовъ О. Kraus'a и М. Adler'a быть предпочтительнее только послѣдній, такъ какъ при первомъ методѣ настолько небрежнѣй конецъ реакціи, что определить моментъ наступленія конца титрованія очень затруднительно, даже по словамъ самаго автора, что и побудило его выработать новый методъ.

Второй же методъ основанъ на томъ, что при окончаніи редукціи строго определенного (0,05 г.) количества сахарослой мѣди сахаромъ для чего требуется 0,0655 мгр., поступаетъ измѣненіе цвѣта; такъ какъ сахара, находящагося въ 1 куб. сант. крови, обычно не достаточно для редукціи всего количества мѣди, то прибавляютъ до наступленія измѣненія цвѣта, которое показываетъ окончаніе титрованія 0,165 % раствора сахара. Итакъ, зная какое количество сахара соответствуетъ мѣди, зная сколько пришлось добавить сахара, легко высчитать, сколько сахара находится въ 1 куб. сант. крови.

Отсюда ясно, что количество мѣди, заключающееся въ мѣдномъ растворѣ должно быть отбѣшено точно, и сѣрникозная мѣдь должна быть химически чистой.

Поэтому я подвергалъ сѣрникозную мѣдь очисткѣ по Soxhlet'u какъ это дѣлается при титрованіи сахара по Феллингу.

Авторъ объ этомъ не упоминаетъ. Очистка мѣднаго купороса состоитъ въ томъ, что продажная химически чистая сѣрникозная мѣдь подвергается перекристаллизациі одинъ разъ изъ разведенной азотной кислоты (1—3) и 3 раза изъ воды. Кристаллы до суха отжимаютъ между пропускной бумагой и оставляютъ ихъ лежать на воздухѣ втеченіе 12 часовъ.

Затѣмъ микробюретка, рекомендуемая авторомъ, для сахарнаго раствора была мною упрощена; именно не мѣла стеклянныхъ крановъ въ нижнемъ свободномъ отверстіи и въ боковомъ, соединяющемъ ее съ сахарнымъ растворомъ, вмѣсто стеклянныхъ крановъ, мной употреблялись Моревскіе зажимы.

Наконецъ, было обращено вниманіе на то, чтобы время титрованія сахара въ крови приблизительно равнялось време-

ни, употребляемому при определеніи титра мѣднаго раствора, такъ какъ, конечно, продолжительность кипяченія (титрованіе производится при кипяченіи мѣдно-сахарнаго раствора) вліяетъ на величину редукціи. Между тѣмъ авторомъ это обстоятельство не отмечено, именно при определѣніи титра требуется послѣ закипанія мѣднаго раствора прибавить 3 куб. сант. сахарнаго раствора и затѣмъ передъ дальнѣйшимъ уже осторожнымъ титрованіемъ кипятить 2 минуты; при определѣніи же сахара въ крови объ этомъ 2-хъ минутномъ кипяченіи не упоминается. Поэтому мною для равенства условий и при определѣніи сахара въ крови производилось это 2-хъ минутное кипяченіе именно къ вскипяченію мѣдному раствору прибавлялся фильтратъ крови, а въ случаѣ содержанія сахара въ немъ, не превышающаго 3,5 mg., прибавлялся, кромѣ того, одинъ кубикъ сахарнаго раствора и передъ дальнѣйшимъ осторожнымъ титрованіемъ только что упомянутымъ сахарнымъ растворомъ производилось 2-хъ минутное кипяченіе.

Далѣе ясно, что этотъ способъ не можетъ быть примененъ для определѣнія высокихъ степеней гипергликемии, т. е. наибольшее количество сахара, которое можно при помощи его определить приблизительно равно 5 mg. Слѣдовательно при содержаніи сахара, превышающемъ 0,5%, должно брать определенную часть филтрага.

При производствѣ определѣній сахара по этому методу выяснилось, во первыхъ, что измѣненіе цвѣта изъ первоначально бирюзовато въ кашемерно желтый, показывавшее окончаніе реакціи, совершается чрезвычайно постепенно и такимъ образомъ конецъ титрованія очень не рѣзокъ. Авторъ для предотвращенія этого затрудненія рекомендуетъ послѣ окончанія реакціи прибавлять еще нѣсколько капель сахарнаго раствора чтобы убедиться въ отсутствіи дальнѣйшаго измѣненія цвѣта жидкости. Но и при этомъ условіи определѣніе конца реакціи затруднительно и субъективно въ известной мѣрѣ оказываетъ вліяніе на определѣніе конца реакціи. Въ остальномъ методъ представляется очень удобнымъ и легко выполнимымъ.

При освобожденіи крови отъ бѣлка авторомъ не указано точно количество прибавляемаго раствора *Quor legri oxidati dialysat 10%*, въ качествѣ руководства предлагается прибавить его каплями до тѣхъ поръ, пока осадокъ не станетъ бы-

стро осаждаются: в общем при соблюдении этого предписания приходится прибавлять $\text{Fe} \cdot \text{ox} \cdot \text{hydr} \cdot \text{dialysatum}$ около 3 к.с.

При определении титра мѣдного раствора оказалось согласно съ авторомъ, что на 25 к.с. его требуется около 3,36 к.с. сахарнаго раствора. (Сдѣлано четыре опредѣленія: на 25 к.с. мѣднаго раствора съ содержанием мѣди въ 0,05 гр. потрачено было 0,165% раствора сахара 3,34 к.с., 3,36 к.с., 3,36 к.с. и 3,34 к.с.

Затѣмъ можно уже теоретически разсуждая ожидать, что при небольшомъ содержаніи сахара въ крови, цифры получатся меньше дѣйствительныхъ, такъ какъ продолжительность титрованія при этомъ, а слѣдовательно и продолжительность кипѣнія больше, чѣмъ при высокомъ содержаніи сахара. Эта разница въ продолжительности кипѣнія при титрованіи крови съ содержаниемъ сахара въ 0,1% и 0,3% достигаетъ 20—30 м. Продолжительность же кипѣнія оказываетъ вліяніе на силу редукціи. Поверхна на чистыхъ сахарныхъ растворахъ и на крови съ различнымъ содержаніемъ сахара показало однако, что это не сильно вліяетъ. При изсажденіи растворовъ сахара наибольшая потеря равнялась всего 0,26 mg., наименьшая 0,076 mg. въ среднемъ 0,147 mg. Такимъ образомъ наибольшая ошибка, полученная мною по этому методу равнялась 17,6% при общемъ содержаніи сахара въ изсаждаемой жидкости въ 0,5 mg.; наименьшая ошибка 3,4% при содержаніи въ изсаждаемой жидкости 3,5 mg. При изсажденіи крови ошибка получилась не выше въ среднемъ 6,0% (см. Табл. IV и V). Наибышая ошибка при этомъ равняется 8,1% при содержаніи сахара въ крови равномъ 0,172%, а наименьшая равнялась 4,4%, при содержаніи сахара равномъ 0,268%; такимъ образомъ въ первомъ случаѣ изъ общаго количества 1,72 mg. сахара было потеряно 0,14 mg., а во второмъ изъ 2,688—0,12 mg. Средняя абсолютная потеря равняется 0,162 mg.

Методъ Коварскаго.

Изъ способовъ, представляющихъ приспособленіе метода Бертраиа къ опредѣленію сахара въ крови, я провѣрилъ только Коварскаго. Способъ Miscoel и Frank'a ничѣмъ существенно не отличается отъ него, кромѣ того, что при немъ требуется для

опредѣленія большія количества крови и, въ силу этого, конечно онъ является менѣе клиническимъ, чѣмъ способъ Коварскаго. Методика же изсажденія совершенно одна и та же, если не считать что для приспособленія къ меньшимъ количествамъ крови Коварскій уменьшилъ въ 10 разъ количество мѣднаго раствора и прибавилъ къ нему вдвое большее количество сахара.

Что же касается способа Михаэлиса, то я не провѣрилъ его потому, что онъ появился уже въ 1914 году, когда работа закончилась. Кромѣ того, онъ требуетъ въ 2—3 раза большее количество крови, чѣмъ способъ Коварскаго, а отличается отъ него только способомъ отдѣленія бѣлка, которое совершается при нагреваніи, и способомъ отдѣленія закиси мѣди именно цитрофугированіемъ, а не фильтрованіемъ черезъ азбестъ.

Что касается метода Коварскаго, то здѣсь необходимо, во-первыхъ, приготовить совершенно точный растворъ шавелекислаго аммонія, по которому опредѣляется титръ раствора марганцовокислаго кали; послѣдній же служитъ для опредѣленія количества образовавшейся закиси желѣза, откуда уже теоретически высчитываютъ количество закиси мѣди, а по количеству послѣдней по эмпирически составленной таблицѣ узнать количество сахара. Изъ этого видно, что растворъ шавелекислаго аммонія, какъ лежачій въ основѣ всего метода, долженъ быть точно приготовленъ изъ химически чистаго препарата. Шавелекислый аммоній, употреблявшій мною былъ фирмы Kahlbaum'a и при сжиганіи на платиновомъ шпательѣ не оставлялъ никакого остатка.

Второе, очень важное условіе, это хорошо устроенный азбестовый фильтръ; только при правильно устроенномъ фильтрѣ можно не терять образующуюся закись мѣди.

Правильное устройство фильтра совершается по Bertrand'у слѣдующимъ образомъ. Азбестъ долженъ быть длиноволокнистымъ. Изъ самыхъ толстыхъ волоконъ его дѣлается сферической комочекъ, диаметрѣмъ соответствующій Адиновской трубкѣ. Послѣдняя представляеть изъ себя трубку, нижняя треть которой значительно уже 2 верхнихъ, на границѣ между ними трубка рѣзко сужена, чтобы задержать азбестъ, затѣмъ немного расширяется и переходитъ въ нижнюю ровную узкую часть.

вставляемую в пробку. Этот комочек толстых волокон осторожно проталкивается до суэкии; затем дбается второй слой, состоящий из более тонких волокон, получаемых расщипыванием перхля, и проталкивается туда же. Нужно стремиться, чтобы каждый слой имел горизонтальную поверхность. Оба эти слоя служат поддержкой третьего фильтрующего. Последний слой состоит из самых ибных волоконцев, которая получается при замачивании водою азбеста в кофб. Эту замученную воду профильтровывают раз 5 через азбестовый фильтр, а затем соединяют эту кофбу, в пробку которой он вставлен с водоструйным насосом, и просасывают через фильтр замученную жидкость сначала при небольшом разбжении, а потом ибсколькo большим, пока фильтрующий слой не достигнет толщины 2—3 мм. Первые два должны иметь толщину в 1 см. каждый. Правильно устроенный фильтр задерживает закис мди на поверхности фильтрующего слоя и может служить для многих, десятков исследований.

В этом, по крайней мере, для меня был главный камень преткновения и, как только научился приготавливать его, исследования сбдались более точными. В этом же видят источник ошибок Fr. Rolly и Fr. Orrethman, которые, по этому, даже пользовались азбестовым фильтром Гуча, так как при нем естественно труднее избежать потерь закис мди.

Третье важное условие для получения правильных результатов—одинаковое и равномерное кипение. При сильном кипении может произойти потеря от разбрызгивания жидкости; при неодинаковом же степени нагревания при различных исследованиях может получиться и неодинаковая степень редукции, хотя бы было в исследуемой жидкости одно и тоже количество сахара. Для достижения этих условий мн пришлось отказаться от азбестовой сетки, которая с течением времени становится черезур душно проводящей тепло. Приходится увеличивать пламя горьлки, жидкость начинает тогда перегреваться, кипит неравномерно. Поэтому я употреблял простую мдную сетку. Сила пламени была такова, что нагревать до кипения приходилось около 1 1/2 мин. Вбдет горьлки с колпачком из мдной сетки, я пользовался

звздчатой горьлкой, величина пламени, у которой также легко регулируется. Для большой быстроты охлаждение производить в проточной водб. При наблюдении этих условий и меня получились цифры, хорошо гармонирующие с приведенными автором, особенно при содержании сахара до 2,5 мг. (то для крови будет соответствовать 0,6% сахара), при более высоких количествах у меня наблюдались, и особенно на границб таблицы, т. е. при содержании сахара в испытуемой жидкости между 30 и 3,5 мг. (то для крови будет соответствовать 0,8%—1,0%) отклонения обычно в сторону минуса, достигая максимумом 0,2—0,25 мг. (таким образом ошибка для крови выразится при подобных опредбениях до 0,08% до 0,1% или 10% общего содержания сахара). Источником этой потери остался для меня несбытым. Но ввиду того, что подобные количества сахара в крови встрбваются чрезвычайно редко, то возможность означенных ошибок не дбает метод совершенно непримлемым, так как при обыкновенно встрбывающихся в крови концентрациях сахара он достаточно точен.

Должен еще прибавить, что фильтр послб растворения закис мди в растворб сфрениксовой окиси желъза я промывал не дважды, а четырежды, уменьшив количество приливаемой каждый раз воды до 2 к. с., так что и при 4-х кратном промывании общбй объем фильтрата равнялся 12 к. с., как и у автора. Послб 2-х кратного промывания 3—5 к. с. вода, заливаемая на фильтр пробрбтала исподную реакцию, а это показывает, что на фильтр остается при этих условиях сетка сфрениксовой окиси желъза.

Что касается освобождения крови от бьлка, то я пользовался признаком, указанным — Reichert'ом и Stein'ом, именно, что звук при встряхивании, если освобождение от бьлка произошло, получается ясно металлический из первоначально стухлого. Получение достаточного количества прозрачной жидкости, благодаря возможности пользоваться электрической центрифугой с 2000 оборотов, ибывшей в лаборатории при клинике проф. М. В. Игнатьева, совершается очень быстро, минут в 10. Прозрачная жидкость, кроме того, фильтровалась через маленький фильтр для отдбления приставших к ней в небольшом числе хлопьев бьлково-желъзанаго осадка.

Все проведение этого метода требовало у меня 1 ч.—1 ч. 20 м., быть может из-за того, что фильтры асбестовые были, во избежание потери закиси мёди, чрезвычайно плотны, и фильтрование происходило поэтому медленно. Усиливать же степень разбужения небезопасно, так как Эрленмейеровские колбочки могут не выдержать и лопнуть, что и было у меня раза 3. Поэтому советую употреблять Эрленмейеровские колбочки Лейскаго стекла.

Итак, сопоставляя все вышесказанное, должно отметить, что этот метод выгоден в том отношении, что не требует больших количеств крови и что он точен; невыгодной стороной его является сравнительная хлопотливость, продолжительность определения и необходимость особых приборок, как то электрической центрифуги, водоструйного насоса.

Что же касается литературных указаний о его точности, то они относятся главным образом к модификации Mieske'a и Franck'a Бертрановского метода, причем этот способ почти по единогласным отзывам, работавших с ним, представляется достаточно точным и величинам, им определяемым, хорошо согласуется с полиритметическими (Takahashi, W. Griesbach и Strassner, Rolly и Orpeltmann), с величинами по микрометоду Bang'a (J. Thannhauser и H. Pfitzer, Hirsch и Reinbach).

Видеть источник ошибки при этом методе согласно мнению Orpelt'a и Schirokauer'a в получении иногда особого рода закиси мёди, видят коренных точнейших пластинок видят ли правильно. Frank указывает, что она появляется только, если кипящую жидкость сразу фильтруют через асбест, не подвергая ее предварительно быстрому охлаждению, Rolly и Orpeltmann считают даже, что этот бурый осадок не есть закись мёди и что он не влияет на определение сахара, тем более, что в опытах Schirokauer'a отмечено появление его и при внесении согласных определений с контрольными. Возможность ошибки они видят в образовании чрезвычайно тонкого осадка, а потому рекомендуют фильтровать не через простой асбестовый фильтр, а через фильтр Гуча.

Что же касается собственно способа Коварского, который на 3 года появился позже, (во второй половине 1913 г.), то единственно найденное мною указание имеется в работ. Б. Хмельницкого, который, провирив этот метод и найдя точным, применил его для исследования крови при арсениновой глюкозурии.

Мною по способу Коварского было съ сахарными растворами 60 определений, из которых 33 первоначальных приходится отбросить, так как вследствие недостаточно обработанной методики, а главное вследствие неправильно приготовленного асбестового фильтра, получались довольно значительные ошибки. (Сорт асбеста, употребляемый мною был волокнистый, химически чистый, полученный от фабрики Kahlbamm) и исследований крови было произведено 39.

Ошибка наиболее высокая при работ. с кровью равнялась—10,9%, самая малая—2,4%, средняя—6,35%, в то время, как при работ. с растворами сахара наибольшая ошибка достигла—6%, наименьшая—0,5% и средняя—3,2%; таким образом в первом случае ошибка получается значительно больше, что объясняется тем, что при определении количества сахара в крови из общего количества найденного сахара приходится вычитать 1 mgr., находящийся в 2 к. с. мёдного раствора. Сообразно с этим объяснением при исследовании крови абсолютная потеря получалась почти одинаковая (даже меньше), как и при работ. с раствором сахара, именно при определении сахара в крови потеряно в среднем 0,07 mgr., а с раствором сахара 0,085 mgr. (Т. 6,7,8,9).

Микрометод Ванга.

Так как поправку метода Bang'a я производил в первую половину учебного 1913—1914 года, то она естественно касается только первоначальной редакции микрометода.

Мною были допущены следующие отступления от предписаний автора.

Во первых, вследствие отсутствия у меня точных весов, допускающих быстрое взвешивание (крутильных или

других каших либо), я брал для извѣдыванія кровь по объему. Для этого мною были заказаны точная, почти капиллярная пипетка длиной около 10 сант., емкость около 0,2 к.с. съ одной отгѣткой, соответствующей 0,1 к.с. (между дѣленіемъ и концомъ пипетки). Конечно, подобная пипетка не могла замѣнить въ смыслѣ точности взвѣшивания, но такъ какъ ошибка при каждомъ извѣдываніи была приблизительно одинакова, то она и не могла оказать вліянія на правильность оцѣнки результатовъ.

Далѣе ввиду того, что рекомендуемый авторомъ бумага Finbrucken № 264 не было въ Петербургѣ, я перепробовалъ нѣсколько сортовъ фильтрованной бумаги Шлейхера и Шюле, остановился на самой толстой бумагѣ его № 601, которая, при хорошей способности впитыванія, точно также не отдаетъ бѣлка, какъ и полученная вполнѣтъ рекомендаціи автора бумага. Между прочимъ мнѣ съ фабрики „Finbrucken“ Stockholm прислана была бумага не № 264, а № 202b служившемъ, что авторомъ была указана № ошибочно.

Третье отступленіе касается способа предохраненія отъ самоокисленія воздухомъ хлористой закиси жѣла при титрованіи. Дѣйствительно, можно избѣгнуть, быстро титруя, это самоокисленіе, какъ показали опредѣленія точно измѣренныхъ количествъ сахара; но, конечно, желательнѣе работать спокойно, не торопясь, чтобы быть вполнѣ увѣреннымъ въ точности работы; для этого необходимо, какъ указываетъ Bang, титровать въ струѣ углекислоты, которая, какъ болѣе тяжелая, исключаетъ возможность сопркосновенія титруемаго раствора съ воздухомъ. Однако, при снятіи съ шейки колбы резиновой трубки, сначала неминуемо вырывается въ колбу воздухъ, а затѣмъ уже проникаетъ струя углекислоты. Во избѣжаніе этого сопркосновенія, я употреблялъ для кипяченія и для титрованія колбу Эрзенмeyerовскую, тоже лессаго стекла, емкостью въ 50 к.с., съ хорошо подогнанной пробкой, часть которой выстояла изъ шейки; изъ трехъ отверстій пробки, одно было заперто стеклянной палочкой, а 2 другихъ—стеклянными трубками съ надѣтыми на нихъ резиновыми. По окончаніи кипяченія надвѣвался на резиновой трубки Моравскіе зажимы, и колба охлаждалась въ струѣ воды, причемъ воздухъ совершенно не проникалъ въ колбу, въ чемъ можно было быть увѣреннымъ, такъ какъ резиновыя трубки спадались и скру-

чивались. По охлажденіи одна изъ резиновыхъ трубокъ соединялась со стекляннымъ наконечникомъ отъ прибора Киппа.

Углекислота проникала въ начальную часть трубки, а по снятіи зажима въ колбочку, и только, когда спившаяся вторая трубка расширялась, тогда сжималась и второй зажимъ. Затѣмъ вынималась стеклянная палочка, прибавлялось черезъ это отверстіе 2—3 капли раствора крахмала и затѣмъ въ это отверстіе вставлялся наконечникъ бюретки, и производилось титрованіе. При такихъ условіяхъ воздухъ не имѣлъ возможности нѣкоторымъ образомъ проникнуть въ колбу. Углекислый газъ, получаемый изъ Кипповскаго аппарата для очистки проходить черезъ стеклянку, наполненную водою.

Для титрованія служилъ 200 п. растворъ іода, а потому употреблялась обыкновенная бюретка съ дѣленіями въ 0,05 к.с.

При приготовленіи растворовъ, особенно точно долженъ быть приготовленъ растворъ іода. Такъ какъ, при его приготовленіи, іодъ освобождается въ количествѣ эквивалентномъ примѣнному и 10 раствору соляной кислоты, то, слѣдовательно, нужно, чтобы растворъ соляной к-ты былъ точно приготовленъ и прибавлялся въ точно измѣренномъ количествѣ $\frac{1}{10}$ -нормальный растворъ соляной кислоты былъ мной точно установленъ по измѣвшемуся въ физиологическаго лабораторіи $\frac{1}{10}$ норм. раствору хлората натрия, приготовленному изъ металлическаго натрія.

Все извѣдываніе, если не считать времени ($\frac{1}{2}$ часа) необходимого для диффузіи сахара изъ крови въ растворъ, дѣлается очень недолго, минутъ 10—20. Оно очень несложно. Конечъ реакціи наступаютъ очень рѣзко; измѣненіе цвѣта совершается сразу, а не постепенно. При точномъ исполненіи всѣхъ предписаній автора, получаются результаты очень точные, причемъ ошибка абсолютная бываетъ крупнѣе при болѣешемъ содержаніи сахара, чѣмъ при меньшемъ, что вполнѣ согласно съ данными автора, по которому іодъ вообще точнѣе связывается при малыхъ количествахъ закиси жѣла, чѣмъ при большихъ. Опредѣленій съ растворами сахара, сдѣланныхъ мною, я не привожу здѣсь, такъ какъ они буквально совпадаютъ съ таблицей автора.

Итак, даже при старой редакции микрометода (а темъ больше при новой, где точность еще больше повышена, распознавание конца реакціи еще рельефнѣе, методика значительно упрощена), я на основании сполна изслѣдованной прихожу къ заключенію, что микрометодъ Bang'a, какъ клинической методъ, можетъ считаться наиболее удобнымъ изъ всѣхъ остальныхъ. Онъ требуетъ наименьшее количество крови изъ всѣхъ способовъ (2—3 капли); затрудненія при освобожденіи крови отъ фибрина избегаются при немъ, благодаря остроумному примѣненію бумаги, внутри и по поверхности которой свертываются фибрин; онъ не требуетъ особаго приборова, очень не сложенъ и требуетъ минимальное количество времени; а, кромя того, чрезвычайно точенъ: при послѣднемъ видоизмѣненіи его точность доведена до 0,000,005 gr. сахара, что при содержаніи сахара въ крови 0,1%, при объемѣ вѣтальной крови, равномъ 0,1 gr. даетъ ошибку въ 5% общаго содержанія сахара, а при содержаніи въ 5% ошибка можетъ равняться только 1,0%

Всѣ требующія приспособленія просты, не дороги и частью находятся во всякой оборудованной лабораторіи. Единственная солидная трата на крутильные вѣсы, стояція 110 марокъ, но они не обязательны. Можно обойтись вѣзвѣщающимъ на химическихъ вѣсахъ въ стаканчикѣ для вѣзвѣщанія съ притертой пробкой, чѣмъ точно также избегается ошибка при вѣзвѣщаніи отъ высыханія, несмотря на больше продолжительное время, тратящееся при работѣ на химическихъ вѣсахъ. Съ другой стороны, такъ какъ вѣсы крутильные необходимы и для другихъ микрометодовъ Bang'a, предложенныхъ для опредѣленія въ крови составныхъ частей ея (хлора, азота, мочевины и пр.) употребленіе ихъ вполнѣ оправдывается. Пробѣрка микрометода дала очень удовлетворительные результаты. Ошибка въ среднемъ не превосходитъ 5,1%, максимальная же равняется 8,9% минимальная 2,4%. Вѣдѣтѣе ничтожнаго количества исходнаго матеріала абсолютная потеря не превосходитъ въ среднемъ 0,021 mg., причемъ наибольшая потеря равняется 0,041 mg., а самая низкая—0,007 mg. Такимъ образомъ, точность больше, чѣмъ достаточна, особенно для клиническихъ цѣлей. (См. № 10, 11 и 12).

Принимая во вниманіе все выше сказанное можно безъ ошибки предположить, что микрометодъ Bang'a какъ наиболее

совершенный изъ всѣхъ методовъ, вытѣснить, по крайней мѣрѣ въ клиникѣ, всѣ остальные способы опредѣленія сахара въ крови.

Качественная проба Bang'a. Что касается качественной пробы, предлагаемой Bang'омъ, то при пробѣркѣ оказалось, что отличить нормальное содержаніе сахара въ крови и слегка повышенное не достигающее 0,15% отъ болѣе высокаго содержанія вполнѣ возможно, такъ какъ при первыхъ пробахъ (4 изслѣдованія) оказалось отрицательной. Различить же степени гипергавеміи, не особенно рѣзко отличающіяся между собой, не всегда удается. При общихъ результатахъ реакціи важно знать вѣсъ крови, такъ какъ ясно, что, если крови взято 0,10 gr. и 0,13 gr., то при 0,12% содержанія сахара въ ней въ первомъ случаѣ проба будетъ отрицательной, а во второй положительной, на чемъ и основано предложеніе N. Roth'a, объ отличіи крови не превращающей содержаніемъ сахара 0,12% и превышающей данную границу. Его измѣненіи качественной пробы для распознаванія степеней гипогавеміи настолько хлопотливо и мало выгодно въ смыслѣ полученія только приближительныхъ чиселъ, что мной не было пробѣрено.

Макрометодъ Bang'a. Что касается макрометода его служащаго для опредѣленія большаго количества сахара до 10 mg., то мной было пробѣрано при помощи его 4 опредѣленія, причемъ параллельно дѣлалось опредѣленія и по микрометоду. Для изслѣдованія брались 5 к. сѣнт. крови, объемъ точно доводился до 100 к. с. деаэцилированной водой. Прибавлялось при постоянномъ взбалтываніи 15 к. с. Liqui ferri oxudati dialysati и послѣ 10 минутнаго взбалтыванія прибавлялся около 1,0 грамма сѣрнокислаго магніи, жидкость снова сильно встряхивалась 2 минуты, и затѣмъ уже производилось фильтрованіе. 35 к. с. фильтрата употреблялось для дальнѣйшаго опредѣленія по Бангу. Титрованіе производилось бѣлой струей углекислота чѣмъ нормальнымъ растворомъ йода:

	Микрометодъ.	Макрометодъ.
Кровь телъчья	0,131%	0,112%
„ волонья	0,112%	0,09%
„ лошади	0,13%	0,113%
„ свиныя	0,142%	0,122%

Таким образом, разница, полученная мною, больше, чем отличается Bang'ом, именно у меня она получилась в среднем равной 0,02%, а в вольевой крови (максимальная разница 0,024%), тогда как у Bang она равняется 0,01%—0,015%. Так как, по всей вероятности, причину этого явления можно было усматривать в том, что я брал кровь не по вбсу для микрометода, а по объему, то я провел параллельные определения у 2-х больных: большого неврастеники и большого диабетом, у последнего исследования были произведены дважды в начале поступления в клинику и перед выпиской. Одно исследование производилось по Коварскому, а параллельное по микрометоду Bang'a, кровь для последнего бралась по вбсу. Именно предварительно взвешивались стаканчик с прищипанной крышкой для взвешивания вместе с протупенной бумажкой (№ 202-b Finbucksen), а затем после насыщения на бумажку 2 капли крови производилось вторичное взвешивание. Разница указывала вбс крови.

	Микрометод Bang'a.	Коварский.	Разница.
II. (Neurasthenia) . . .	0,09%	0,08%	0,01%
K. (Diabet. mellit.) . .	0,475	0,46	0,015%
	0,35	0,342	0,008%

Таким образом, при этом условии у меня получалась такая же разница, как и у других исследователей. Так Bang между микрометодом и макрометодом получаемую разницу определять, как выше уже указано, в 0,01%—0,015%. Такая же разница у него получалась между микрометодом и способом Фелдига, Hirsch и Reinbach между микрометодом Bang'a и способом Бертрана получили разницу в определении до 0,01%, а Tappinuser и Ritzler от 0,01% до 0,12%. Далее, между микрометодом Bang'a полученной величиной сахара и, определенной по способу Marenne, Griesbach и Strassner получал различие не превышающее 0,01%.

Метод Wackera.

Означенный метод был уже ранее пропробирован Forschbach'ом и Severin'ом, причем последние исследователи пришли к неблагоприятному заключению о точности данного метода.

Определение порой (в 32,6%) становилось совершенно невозможным, так как окраска фильтрата кровяного в 17,4% получалась постоянно настолько других оттенков, что сравнение с чистыми сахарными растворами делалось совершенно невозможным, или же вследствие получавшихся взвешенных осадков в кровяном фильтрате в 15,2%, одинаково исключалась возможность сравнения.

В тех же опытах, где сравнение было возможным, средняя ошибка равнялась 23,2% общего количества сахара, а максимальная 61,21% или абсолютной разниц в 0,163%.

В отзыве на критику, автор указал 2 существенных недостатка в методик исследователей, которые, по его мнению, и обусловили ошибку при их опытах. Именно, нельзя освобождать кровь от белка дилизированной колоидальной окисью железа, так как в этом препарате содержится различия прироста, переходящая в фильтрат и участвующая в реакции с парафенилдиазинсульфокислотой; во 2-х необходимо пользоваться химически чистым препаратом ее, для чего необходимо самому перекристаллизовать ее, причем получается совершенно белый серебристый продукт, растворяющийся в целости с легка желтоватым цветом, а в разведении, подобном употребляющемуся при реакции, совершенно бесцветный, как вода. В заключение автор добавляет требование, чтобы все препараты были химически чистые, и чтобы во время исследования соблюдалась самая тщательная чистота, именно, чтобы пипетка не соприкасалась ни с каким органическим материалом; со столом, с на-

ружной поверхностью пробирок, до которых касались пальцами и пр., чтобы они не служили помимо этой реакции для каких либо целей, так как, вследствие чрезвычайной чувствительности ее, все эти условия могут оказать влияние на результаты исследования.

Поэтому мною при проверке этого способа употреблялись исключительно только химически чистые реактивы фабрики Kahlbaum, а не имевшиеся на этой фабрике кристаллические желѣзо-калийные квасцы, пришлось приготовить самому. Желѣзо-калийные квасцы получают вид больших октаэдров, правильной системы, слегка розоватого цвета, при простом смешении раствора сѣркокалийной соли с раствором сѣрнокислой окиси желѣза и последующем медленном испарении жидкости. (Основы химии Менделѣева, 8 изд. 1906 г., стр. 750)

Мною было продѣлано по этому методу 30 определѣний, не считая 12 неудавшихся из-за неполного освобождения от бѣлка, так как жидкость послѣ фильтрата оставалась замѣтно краснаго цвета и содержала значительное количество бѣлка. Во всѣхъ этихъ 12 случаяхъ для освобождения бѣлка от крови применялся сѣрнокислый цинкъ. Лучшее освобождение получалось отъ желѣзикалийныхъ квасцовъ, но и здѣсь, въ 3 случаяхъ цвѣтовая реакция получалась настолько желтые сахарной скалы, что сравнение было невозможнымъ. Авторъ объясняетъ подобное явление желтого цвѣта неполнымъ освобождениемъ отъ бѣлка, и предлагаетъ дальѣйшее прибавление къ каждой пробѣ по 2,0 куб. сан. раствора кровяной соли, при чемъ появляющееся оранжево-красное окрашивание надо сейчасъ же сравнивать. Действительно, въ этихъ 3 случаяхъ съ частью фильтрата получалось легкое помутнение отъ уксусной кислоты и желтой кровяной соли. Авторъ предлагаетъ эту поправку, къ сожалѣнію не указывая, при какомъ содержаніи бѣлка она возможна. Очевидно, оно не допустимо при возможности обнаружить бѣлокъ желтой кровяной солью, такъ какъ по крайней мѣрѣ у меня въ этихъ 3 определѣніяхъ, получились настолько большія ошибки до 120% общаго количества, что пришлось ихъ откинуть и не принимать во внимание при отбѣсѣ метода.

Дальѣ, действительно продажный препаратъ парафенилгидразинсульфокислоты растворяется въ щелочи съ образованиемъ мясокраснаго цвѣта, а потому въ такомъ видѣ не применимъ для реакции, въ результатѣ которой долженъ образо-

ваться только въ присутствіи углеводовъ красный цвѣтъ. Очистка препарата совершалась точно по предписанію Wacker'a, именно: 12 граммъ его суспендируется въ 200 к. с. воды и растворяется при прибавленіи потребнаго количества натронной щелочи и гидросульфита на кончикѣ ножа. По охлажденіи до 4° С фильтруется черезъ складчатый фильтр, снова охлаждается и для осаждения прибавляется разведенная соляная кислота до слабо конго-кислой реакціи. Жидкость отъ осадка на воронкѣ Нунца быстро отсасывается. Осадокъ дважды промываютъ дестиллированной охлажденной водой, вода вытѣсняется 2 кратнымъ наполненіемъ алкоголя, а алкоголь 2 кратнымъ наполненіемъ эфира. Бѣлая парафенилгидразинсульфокислота высушивается въ вакуумъ-эксикаторѣ, послѣ того какъ алкоголь и эфиръ индѣль улетучатся. Операцию повторяютъ, если препаратъ получится не совершенно бѣлымъ. При повтореніи этой процедуры 4 раза получаютъ действительно серебристый продуктъ, но не чисто бѣлый, а съ слегка сѣроватымъ оттенкомъ. Такъ какъ онъ удовлетворяетъ другому требованію Wacker'a, именно онъ, растворенный въ щелочи съ цвѣтомъ легкаго бѣлаго вина, то дальѣйшая перекристаллизация не была применима.

При пользованіи этимъ препаратомъ, тогда какъ другіе растворы были приготовлены изъ химически чистыхъ препаратовъ Kahlbaum'a, остатки сахарной скалы не всегда представляла постепенное усиленіе цвѣта; иногда среди нея наблюдалось, что болѣе слабыя концентрации давали болѣе сильную окраску, чѣмъ болѣе крепкія, точно также получался не всегда одинаковый красный тонъ; въ некоторыхъ пробѣ имѣли болѣе бурный оттѣнокъ, чѣмъ остальные. Наибыпастая ошибка при исследованіи равнялась 24,5% средняя 13,6%, такъ какъ сказанное относительно скалы, одинаково относится и къ кровянымъ пробамъ, гдѣ также наблюдались иногда различныя оттѣнки; считаю причиною столь крупную ошибку чрезмерную чувствительность реакціи, т. е. погрѣшности при исследованіи почти неизбежны, и исполненіе пунктуальное требованіе автора затруднительно при обычныхъ условіяхъ клиническаго исследованія *). (См.Т.13).

*) Я работалъ вечеромъ при искусственномъ свѣтѣ; быть можетъ, это обстоятельство также играло известную роль въ неравнобѣрномъ протеканіи самоокисленія образующаго пиразона.

Далее необходимо отметить следующие недостатки препятствующие отнести данный метод к клиническим способам исследования: во 1) продолжительность исследования, во 2) большое количество посуды. Устройство скалы, конечно, обязательное при этом метод, требует и много посуды, и много времени, хотя бы нужно было произвести одно определение. Времени еще тем, больше тратится, что окраска, появляющаяся от медленно протекающего самоокисления, должно сравнивать через 4 часа; причем первый час, требуется каждую пробу равномерно встряхивать через 5 минут; а затѣм ъ несколько рѣже; (иначе окисление протекает не повсюду равномерно), таким образом исследователь должен посвятить до ъ некоторой степени все это время почти исключительно этой одной реакции, на результаты которой влиять, по словам автора, даже прикосновение пипетки къ столу.

Результаты этого определения еще темъ болѣе обезцѣпываются, что этимъ методомъ определяется по словамъ автора не только глюкоза, но все вообще углеводы, находящиеся въ крови, причемъ количество ихъ приравнивается къ количеству винограднаго сахара, растворъ котораго одинаковъ съ нимъ по цвѣту. Но это совершенно неправильно, такъ какъ различные углеводы даютъ не одинаковую окраску. Но исследование самого Wacker'a мальтоза и молочный сахаръ даютъ въ 2 раза болѣе слабую окраску, чѣмъ виноградный сахаръ, а по исследованію Forschebach'a и Severin'a даже въ 3 раза сильнѣйшую окраску. Такимъ образомъ сдѣлать признаніе что цифры, получаемыя по способу Wacker'a, могутъ быть сравнимами только между собой, а не съ числами, полученными другими методами, такъ какъ они не даютъ истинной оцѣнки общаго количества углеводовъ.

Къ этому слѣдуетъ прибавить, что и другія вещества, находящиеся въ крови, помимо углеводовъ, участвуютъ въ реакціи, причемъ даютъ разнообразныя оттѣнки желатаго и краснаго цвѣта. Правда, они должны для этого находиться въ концентраціи, превyšающей обычное ихъ содержаніе въ крови; но, быть можетъ, количества, ничтожныя сами по себѣ, имѣютъ вѣзныя, обуславливающія тѣ уклененія въ окраскѣ, которыя наблюдаются при опредѣленіи, въ пробахъ съ кровянымъ сахаромъ. Кроме того, ъ некоторые вещества, оказываютъ

вліаніе на реакцію въ концентраціи, встрѣчающейся въ крови, напримеръ, 3-окислосиличная кислота, которая можетъ достигать при диабетѣ по Minkovsky 0,22%, а по Hinquonng 0,5%, даетъ окраску даже при 0,01% по Forschebach'u и Severin'u, а по самому Wacker'u при концентраціи въ 0,1%. Далѣе по опытамъ Wacker'a находящийся въ крови глицеринъ, также продукты окисленія винограднаго сахара — глюкононовая кислота, винная кислота и т. п. соединенія, содержащія группу СНОН, вліаютъ на реакцію одинаково сильно съ винограднымъ сахаромъ и потому увеличиваютъ соответственно своей величинѣ результаты, получаемыя при опредѣленіи. Значительное же количество ацетоксиусеной кислоты образуетъ даже безъ целочн желтое окрашиваніе, исключющее всякую возможность дальнѣйшаго исследования.

Снова возвращаясь къ своимъ опытамъ должень отметить, что я брать кровь для анализа по объему, а не по вѣсу на тѣхъ же основаніяхъ, какъ и при проверкѣ микрометода Bang'a, при этомъ при содержаніи сахара въ крови, превyšающемъ 0,3% я, согласно указанію Wacker'a, брать кровь въ количествѣ 0,20 к.с., а при меньшемъ содержаніи 0,4 к.с.

Способъ Reichera и Stern'a

Относительно этого способа нужно прежде всего отметить, такъ и относительно предыдущаго метода, что при помощи его опредѣляется не количество винограднаго сахара, а количество всѣхъ углеводовъ, находящихся въ крови, въ томъ числѣ и продуктовъ распада углеводистаго характера, не имѣющихъ калорическаго значенія для организма, напр. глюкононовой кислоты. Далѣе, такъ какъ количество ихъ узнается изъ сравненія получаемое окрашиванія въ кровяномъ фильтратѣ съ окрашиваніемъ раствора винограднаго сахара, и такъ какъ окраска, обуславливаемая различными углеводами, не одинакова (мальтоза даетъ болѣе слабое окрашиваніе, лактоза и особенно арабиноза даютъ болѣе сильное, чѣмъ виноградный сахаръ, леулуза же даетъ особую окраску, именно вишневою), то ясно, что при помощи этого метода получается только относительная величина этихъ углеводовъ, а не абсолютная.

Методъ этотъ былъ проверенъ Forschebach'омъ и Severin'омъ, причемъ они отмѣчаютъ, что оттѣнки получаемаго окра-

шивания часто бывают различны, так что сравнение затруднительно. Причину этого различия они видят в колебании t° , получающемся при сжижении сахарного раствора с α -сѣрной кислотой, так как согласно Reinhold'у при высокой t° сѣрная кислота образует из виноградного сахара вещества, дающа я синее окрашивание с α -naphthol'ом, а при высокой красное. При рекомендованном же способѣ сжижения получающаяся t° по крайней мѣрѣ на границѣ соприкосновения сѣрной кислоты съ сахарным раствором не одинакова, даже у одного и того же исследователя, как показали ихъ измѣрения t° во время сжижения через каждыя $1/4$ минуты.

Попытки этихъ авторовъ, измѣнивъ методику, добиться лучшихъ, болѣе правильныхъ результатовъ, не увѣнчались успѣхомъ. Ошибка у нихъ максимальная достигала 36%, а средняя 20% при работахъ съ сахарными растворами.

Перехода къ собственной проверкѣ долженъ прежде всего замѣтить, что я изъ хромофотометровъ, рекомендованныхъ авторомъ, пользовался хромокопомъ Stein'a. Поездкой устроилъ по принципу хромофотометра Плесча, но въ отличие отъ него онъ, при измѣненіи толщины слоя сравнительнаго раствора до получения одинаковой степени окраски съ исследуемой жидкостью, допускаетъ точность измѣрения всего въ 1 mlm., тогда какъ хромофотометръ Plesch'a до 0,1 mlm.

Далѣе я принялъ въ вниманіе указаніе Reichler'a и Stein'a о необходимости подвергнуть трехдневному диализу продажный препаратъ Liq. ferri oxydat dialysati, который содержитъ примѣсь иногда до 0,8% хлората желѣза, въ чемъ они и усматриваютъ причину, значительныхъ ошибокъ у Forschbach'a и Severin'a.

Наконецъ со своей стороны особенно подчеркиваю, что обязательно необходима проверка сѣрной кислоты, о чемъ упоминаютъ Reichler и Stein: именно она не должна давать при сжиженіи съ α -naphthol'омъ и дистиллированной водой зеленого или красноватаго окрашивания. Если она даетъ такое, то получаютъ значительныя ошибки, какъ это было первоначально у меня съ препаратомъ сѣрной кислоты, удѣльнаго вѣса 1,84. Сѣрная же кислота, того же удѣльнаго вѣса, фабрики Kahlebaum'a давала только слегка желтоватое окрашивание. Точно также высушивание всей употребляемой при

исследованіи посуды производилось согласно предписанію автора не полотноемъ, а алкогелемъ, и эфиромъ, такъ какъ въ противномъ случаѣ къ стеклу всегда пристають волокна ткани, которыя причиняютъ затѣмъ избыточную погрѣбность при образованіи окраски.

При соблюденіи всѣхъ этихъ условій, а также при точно проводимомъ согласно указаній автора сжиженіи сѣрной кислоты съ сахарнымъ растворомъ, у меня однако не всегда получался одинаковой отѣнокъ окраски, подобно тому, какъ это указываютъ Forschbach и Severin, и Schumm и Hegler. Но эта разница въ значительной мѣрѣ оглаживалась при газовомъ освѣщеніи, подобно тому, какъ исчезаетъ различіе окраски при этихъ же условіяхъ въ гемометрѣ Fleischl'я между растворомъ крови и рубиновымъ клиномъ. Поэтому я въ подобныхъ случаяхъ дѣлалъ опредѣленія въ специальной камерѣ при лабораторіи клиники профессора Академика, М. В. Иновскаго освѣщаемой только газовымъ свѣтомъ и предназначенной для опредѣленія гемоглобина по Fleischl'ю.

Такъ какъ для получения правильныхъ результатовъ большое значеніе имѣетъ опредѣленная степень нагреванія жидкости (76°—78°), которая достигается при правильномъ усвоеніи методики сжижения, указанной авторомъ, то онъ рекомендуетъ ее усилить при работѣ съ сахарными растворами, а затѣмъ уже перейти къ опредѣленію количества сахара въ крови. Такимъ образомъ мною и было поступлено, причемъ для получения прочнаго основнаго раствора сахара, я прибавлялъ по совѣту автора zincum sulfuricum.

Опредѣленія при помощи этого метода были два раза проверены контрольными опредѣленіями по Коварскому, причемъ разница, полученная мною была выше указываемой Reichler'омъ и Stein'омъ. Кровь вола и свиньи только что принесенная съ бойни дала по цѣвтовому способу содержание углеводовъ въ 0,16% и 0,14%, тогда какъ по Коварскому 0,122% и 0,112%, то есть получалась разница 0,04% и 0,02%, тогда какъ авторы способа подобныя цифры отмѣчаютъ только при особыхъ условіяхъ, при наркотѣ животныхъ, при диабетѣ у людей; обычная же разница, отмѣчаемая ими, равна 0,005%.

Въ заключеніе необходимо добавить, что при употребленіи хромокопа Stein'a, установка толщины слоя испытываемаго

слоя раствора в 20 ml возможна только при концентрациях сахара в ней, не превышающих, больше чем в 1½ раз^а концентраций сравнительного раствора, так как наибольшая толщина слоя жидкости, которую она достигает в приборе Stein'a, равняется приблизительно 30. Поэтому при концентрациях, превышающих эту границу, надо или усилить концентрацию сравнительного раствора или уменьшить толщину слоя исследуемой жидкости; конечно, точность определения при этом соответственно понизится. И при концентрациях сахара в крови, превышающей 0,3%, которая при разведении, употребляемом в этом способе больше чем в полтора раза превосходит 0,02% сравнительный раствор, устанавливать толщину слоя исследуемой жидкости в 10 ml.

Наивысшая ошибка, полученная мною, при исследовании сахарных растворов, достигала 20%, равняясь в среднем 6,6%, тогда как судя по цифрам, приводимым автором она равняется в среднем 2,5% и не превосходит 6,6%. Ошибка при исследовании сахара в крови равнялась у меня 7,3%. Вероятно, большая величина ошибки при определении мной количества сахара отчасти объясняется меньшей точностью прибора Stein'a, сравнительно с хромофотометром Plesch'a. Абсолютная ошибка при этом методе не превосходить 0,03% и наблюдаются при количествах сахара, превышающем 0,3%, при меньшей же концентрации сахара в крови она не превосходит 0,02%, относительная же ошибка возрастает, конечно, с уменьшением концентрации сахара в крови, как и при всех методах (см. Т 14, 15 и 16).

На основании всего вышесказанного метод Reichera и Stein'a вряд ли может считаться клиническим, несмотря на свою достаточную в клиническом отношении точность, которая естественно должна еще увеличиться при пользовании хромофотометром Plesch'a. Против признания его клиническим говорить во первых, что числа, получаемые при помощи его не выражают абсолютного содержания сахара или вообще углеводов крови, а только до некоторой степени дают определение относительно общего количества углеводов.

Таким образом, цифры, получаемые по этому методу могут быть сравниваемы только с числами, полученными этим же методом, да и то не всегда они покажут правильное отношение, так как, как я выше указал, не все угле-

воды дают одинаково сильное окрашивание; поэтому при преобладании углеводов, дающих более слабую окраску, этот метод может показать меньшее количество углеводов, чем в присутствии небольшого количества углеводов, но дающих более сильное окрашивание. Против признания его клиническим говорить его значительная чувствительность, присутствие мельчайших волосков ткани, по словам автора, уже влечет на стеньгу и отбрасывает окраску...

Что же касается способов Forschbach'a и Severin'a, то данный способ я не мог проверить, за неимением необходимого для него аппарата Плетна. Хотя и ему, как каждому колориметрическому методу, свойственны известная субъективизм, по крайней мере для больших колебаний сахара он, по исследованию Rolly и Orreghmann'a вполне точен.

Указатель таблиц.

Табл. № 1, 2 и 3	показ. результ. опред.	по Herzfeld'y.
" № 4 и 5	" " " "	" O. Kraus'y.
" № 6, 7, 8, 9	" " " "	" Коварскому.
" № 10 и 11	" " " "	" микромет. Bang'a.
" № 12	" " " "	" кач. пробъ Bang'a.
" № 13	" " " "	" Wacker'y.
" № 14, 15 и 16	" " " "	" Reicher'y и Stein'y.

ТАБЛИЦА I.

Количество вин. сахара в% mlgr.	Количество раствора метиленовой сини 1—100.000 в% куб. сант.			
	1,0	0,3	0,7	1,1
1	3,5	2,3	4,2	1,7
3	5,0	4,1	2,9	4,3
4	12,0	10,4	7,1	8,1
5	20,0	11,1	13,2	14,5
6	18,0	19,2	17,6	15,6
7	19,1	18,6	20,8	20,8
8	28,0	25,0	24,2	28,6
9	34,4	30,1	35,4	36,0
10	44,4	42,0	40,4	39,0

ТАБЛИЦА II.

Количество вино-градного сахара.	Количество к. с. раствора метиленовой сини 1—100.000.				Среднее.
	1	2	3	4	
1 mlg.	1,1	1,6	1,4	1,3	1,35
2 "	3,1	4,0	2,6	5,2	3,8
3 "	2,9	6,0	6,2	5,7	5,2
4 "	9,0	8,7	9,2	10,4	10,3
5 "	14,1	15,2	15,2	13,4	14,5
10 "	38,6	40,5	42,3	43,6	41,2

ТАБЛИЦА III.

Количество сахара в миллиграммах.	Количество к. с. раствора метиленовой сини 1—100.000.				Среднее.
	1	2	3	4	
1	4,5	5,7	5,80	4,0	5,0
2	9,8	9,3	12,7	11,9	10,9
3	14,0	12,7	15,3	15,0	14,2
4	21,4	20,1	21,4	21,3	21,0
5	24,5	24,6	23,9	22,4	23,8
6	24,6	27,5	30,0	29,4	27,9
7	36,3	36,6	39,1	37,1	37,3
8	38,8	41,1	41,9	—	40,6
9	45,5	45,5	45,9	—	45,6
10	53,2	50,4	53,6	51,4	52,1

ТАБЛИЦА IV.

Количество сахара в mlg.	Количество к. с. 0,165% раствора сахара прибавленное до получения полной редукции.				Определено в mlg.	Потери.	
	1	2	3	Среднее.		Абсол. в mlg.	Относ.
0,5	3,21	3,10	3,02	3,11	0,412	0,088	17,6%
1,0	2,86	2,70	2,84	2,8	0,924	0,076	7,6%
2,0	2,16	2,27	2,19	2,21	1,89	0,11	5,5%
3,0	1,5	1,36	1,34	1,40	3,23	0,23	7,6%
3,5	1,28	1,34	—	1,31	3,38	0,12	3,4%
4,5	0,52	0,42	—	0,47	4,76	0,26	5,7%

ТАБЛИЦА V.

Количество к. с. 10% раствора прибавленное к 10,0 к. с. крови.	Среднее количество сахара в mlg. в 1 cc. крови.	Процентное содержание сахара.	Количество к. с. 0,165% раствора сахара потрачено для получения полной редукции.		Определено в mlg.	Найденное процентное содержание сахара в крови.	Потери.	
			1	Среднее.			Абсолютн. в mlg.	Относительн.
Конская кровь.	—	—	2,97	2,85	2,91	0,74	0,074	—
0,1	1,72	0,172	2,32	2,48	2,40	1,58	0,158	0,14
0,2	2,68	0,268	1,62	1,70	1,66	2,8	0,28	0,12
Баранья кровь.	—	—	2,84	2,96	2,90	0,759	0,0759	—
0,25	3,17	0,317	1,28	1,36	1,32	3,36	0,336	0,19
0,3	3,64	0,364	1,05	1,01	1,03	3,84	0,384	0,20

Количество куб. сант. 1% раствора в сахара при добавлении к 10 к. с. крови.	Процентное содержание сахара	Абсолютное содержание сахара	Количество куб. сант. хамелеона, потраченное при титровании.		С хамелеона.	Соответствующее количество ктн в мг.	Найденное количество сахара в мг.	Найденное % содержание сахара в крови.	Абсолютная на 1 к. с. крови в мг.	Абсолютная в %.	Относитель. в %.
			II	I							
9,9	590,0	202,0	4,2	4,2	4,2	35,9	55,9	55,9	54,9	55,9	590,0
9,9	450,0	151,0	4,2	4,2	4,2	29,5	5,5	5,5	59,5	59,5	450,0
9,5	500,0	180,0	4,2	4,2	4,2	58,4	0,5	0,5	6,4	1,5	500,0
			4,2	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2	

Таблица № 9. О. Спидная кровь. Титро. хамелеон = 0,07.

Таблица № 8. Титро. марганцовокислого калия = 0,07. Титриды крови. Вернуть 3-ое суточк. хранения ед на деситинь.

Количество куб. сант. 1% раствора в сахара, прибавленное к 10 к. с. крови.	Процентное содержание сахара в крови.	Абсолютное содержание сахара в мг.	Количество к. с. хамелеона, потраченное при титровании.				Среднее количество куб. сант. хамелеона.	Соответствующее количество ктн в мг.	Найденное количество сахара в мг.	Найденное количество сахара в 1 к. с. крови в мг.	Найденное % содержание сахара в крови.	Абсолютная на 1 к. с. крови.	Абсолютная в %.	Относительная в %.
			I	II	III	IV								
1	—	—	2,25	2,3	2,15	2,2	2,22	2,15	1,1	0,1	0,04	—	—	—
0,3	0,33	0,225	3,5	3,40	3,60	—	3,50	3,4	1,75	0,75	0,3	0,075	0,03	9
0,35	0,377	0,425	3,8	3,75	3,9	3,85	3,825	3,71	1,906	0,906	0,352	0,0855	0,015	4
0,4	0,423	1,0575	4,1	3,95	3,90	4,05	4,0	3,88	2,015	1,015	0,406	0,0425	0,017	4

Потери	Количество куб. сант. н.200 раствора йода, полученное при титровании.				Количество сахара в 10% растворе в 10 к. с. крови.	Процентное содержание сахара в крови.	Количество сахара в мг. в 0,1 к. с. крови.	Количество куб. сант. н.200 раствора йода, полученное при титровании.	Среднее количество к. с. н.200 раствора йода.	Найденное количество сахара в мг в 0,1 к. с. крови.	Процентное содержание сахара в крови.	Абсолютная 10% квача в 10 к. с. крови.	Потери абсолютная % в 10 к. с. крови.	Относительная % в 10 к. с. крови.
	Абсолютная в мг. в 0,1 к. с. крови.	Абсолютная в %.	Относительная в %.	Потери										
4,4	0,044	0,044	0,044	4,25	0,956	0,956	4,25	0,56	0,56	0,117	0,117	0,012	0,012	7,2
4,2	0,024	0,024	0,024	2,45	0,547	0,547	2,45	0,83	0,78	0,178	0,178	0,012	0,012	7,2
4,2	0,024	0,024	0,024	2,45	0,547	0,547	2,45	0,83	0,78	0,178	0,178	0,012	0,012	7,2
8,3	0,04	0,04	0,04	9,81	1,44	1,44	9,81	1,48	1,46	0,254	0,254	0,009	0,009	3,5
5,7	0,022	0,022	0,022	5,81	1,40	1,40	5,81	1,48	1,46	0,254	0,254	0,009	0,009	3,5
2,4	0,007	0,007	0,007	2,51	0,300	0,300	2,51	1,48	1,46	0,254	0,254	0,009	0,009	3,5
5	0,01	0,01	0,01	4,890	0,880	0,880	4,890	1,48	1,46	0,254	0,254	0,009	0,009	3,5

Таблица 11. Результаты анализа крови человека при гипертонии.

Количество к.с. 10% раствора сахара, прибавленное в 10 к.с. крови.	Процентное содержание сахара в крови.	Абсолютное содержание сахара в мг. в 0,1 к.с. крови.	Количество куб. сант. н.200 раствора йода, полученное при титровании				Среднее количество к.с. н.200 раствора йода.	Найденное количество сахара в мг в 0,1 к.с. крови.	Процентное содержание сахара в крови.	Абсолютная 10% квача в 10 к. с. крови.	Потери абсолютная % в 10 к. с. крови.	Относительная % в 10 к. с. крови.	
			1	2	3	4							
0,05	0,166	0,166	0,65	0,55	0,50	0,55	0,56	0,117	0,117	0,012	0,012	7,2	
0,15	0,203	0,203	1,10	1,15	1,20	1,20	0,83	0,78	0,178	0,178	0,012	0,012	7,2
0,25	0,358	0,358	1,45	1,40	1,60	—	1,48	0,236	0,236	0,032	0,032	8,9	
0,35	0,451	0,451	2,15	2,05	2,20	2,00	2,10	0,467	0,467	0,016	0,016	3,5	
0,45	0,542	0,542	2,45	2,60	—	—	2,53	0,565	0,565	0,017	0,017	3,1	

Таблица 10.

Кровь человека, только что принесенная съ бойца.

ТАБЛИЦА № 12.

Кровь теленка с содержанием сахара = 0,108% (определено по микрометоду Ванг'а).

Вытяжка сахара 5 к. с. раствора хлористого калия из равлических количеств крови.	Прибавленное количество к. с. 0,1% раствора сахара.	Количественная реакция Ванг'а.
0,131 гр.	"	отрицательная
0,117 гр.	"	"
0,128 гр.	"	"
0,122 гр.	"	"
0,125 гр.	0,05	положительная
0,123 гр.	0,05	"
0,118 гр.	0,10	положительная
0,129 гр.	0,10	"
0,127 гр.	0,20	рвзкая
0,130 гр.	0,20	"

ТАБЛИЦА № 13.

Концентрация сахарист. растворов при постоянной толщине слоя изъ. в 22 мм.	Толщина слоя сравнительного раствора при постоянной концентрации в 0,02% в. мм.	Найденное содержание сахара в процентах.	Потеря	
			абс.	относит.
0,005%	5	0,005	0	0
—	6	0,006	0,001	20%
0,01	10	0,01	0	0
—	9	0,009	0,001	10%
0,015	14	0,014	0,001	6,6%
—	17	0,017	0,002	13,3%
0,020	20	0,020	0	0
—	18	0,018	0,002	10%
0,025	26	0,026	0,001	4%
—	28	0,028	0,003	12%
0,030	32	0,032	0,002	6,6%
—	29	0,029	0,001	3,3%

ТАБЛИЦА № 14.

Процентное содержание сахара при постоянной толщине слоя изъ. в равной 10 мм.	Толщина слоя в. мм. сравнительного раствора виноградного сахара при постоянной концентрации его равной 0,02%.	Найденное содержание сахара в процентах.	Потеря.	
			абсолют.	в проц.
0,035	16	0,032	0,003	8,5
—	18	0,036	0,001	2,8
0,040	19	0,038	0,002	5,0
—	22	0,044	0,004	10,0
0,045	23	0,046	0,001	2,2
—	24	0,048	0,003	6,6
0,05	23	0,046	0,004	8,0
—	26	0,052	0,002	4,0

Таблица № 15. Кровь, толстая черепь, сушка хранилища на эстимике.

Въ 10 к. с. крови при базаисе 10% раствора инвертамент сахара.	Высчитанное сопряже- ние в под. утисловов.	Абсолютное сопряжение утиисловов въ 2 к. с.	Толщина въ м.м.	Словъ, наскриве- ной кинности.	Толщина въ м.м.	Словъ, наскриве- ной кинности.	Копириметрическое опредѣленіе.			Сопряженіе въ % утиис- лововъ въ кровн. центри- метрумъ 0,05%.	Сопряженіе утиис- лововъ въ кр- вн. центри- метрумъ 0,05%.	Сопряженіе въ % утиис- лововъ въ кровн. центри- метрумъ 0,05%.	П о т е р я.		
							Толщина въ м.м.	Словъ, наскриве- ной кинности.	Сопряженіе утиис- лововъ въ кр- вн. центри- метрумъ 0,05%.				Абсолютная въ м.г.	Абсолютная въ %.	Относительная въ %
0,05	0,120	2,58	20	2	9	0,009 0,008 0,008	0,013	0,13	0,02	0,001	0,77	—	—	—	—
0,1	0,178	3,56	20	3	14	0,014	0,14	0,22	0,22	0,011	8,6	—	—	—	—
0,2	0,275	5,51	20	20	16	0,016	0,16	0,36	0,36	0,018	10,1	—	—	—	—
0,3	0,360	7,38	10	25	29	0,029	0,29	0,50	0,50	0,025	9,69	—	—	—	—
0,4	0,461	9,22	20	18	20	0,036	0,36	0,36	0,36	0,015	5,5	—	—	—	—
—	—	—	24	20	0,04	0,4	0,48	0,48	0,48	0,031	8,4	—	—	—	—
—	—	—	35	24	0,048	0,48	0,5	0,5	0,5	0,019	4,9	—	—	—	—
—	—	—	—	—	0,05	0,05	—	—	—	0,039	8,4	—	—	—	—

Таблица № 16. Кровь, толстая только что приисеиная съ болни.

Количество куб. сант. 10% раствора сахара приисеиное къ 10 к. с. крови.	Количество приисеи- ной для иссривованія крови въ к. с.	Абсолютное сопряжение утиислововъ для наскр- ивенія сахара въ пу- рп. м.г.	Проектное сопряжение сахара въ кровн.	Найисеиное абсолютное количество сахара въ м.г. въ приисеиной ко- нцетрацїи кровн.	Найисеиное процентное сопряженіе сахара.	П о т е р я.		
						Абсолютная въ м.г. сахара въ приисеиной ко- нцетрацїи.	Абсолютная въ %.	Относительная.
—	0,4	—	—	—	1,61	—	—	—
—	—	—	—	0,368	0,92	—	—	—
—	—	—	—	0,596	1,49	—	—	—
—	—	—	—	0,688	1,72	—	—	—
—	—	—	—	—	1,43	—	—	—
—	—	—	—	0,92	0,23	—	—	—
0,05	0,4	0,768	0,192	0,688	0,172	—	—	—
—	—	—	—	0,92	0,23	—	—	—
0,1	—	0,96	0,24	0,92	0,23	—	—	—
—	—	—	—	1,196	0,299	—	—	—
0,15	0,2	0,576	0,288	0,636	0,318	—	—	—
—	—	—	—	0,546	0,273	—	—	—
0,2	—	0,672	0,336	0,786	0,393	—	—	—
0,25	—	0,766	0,383	0,954	0,477	—	—	—
—	—	—	—	0,818	0,409	—	—	—
0,3	—	0,86	0,43	1,0	0,5	—	—	—
—	—	—	—	0,954	0,477	—	—	—
—	—	—	—	—	0,047	—	—	—

В Ы В О Д Ы.

- 1) Способы колориметрические для клинического определения сахара в крови не применимы.
- 2) Метод Herzfeld'a, при условии соблюдения только указанных автором предосторожностей, дает большие ошибки и потому не применим.
- 3) Метод Ташау достаточно точен, но, принимая во внимание его относительную сложность и продолжительность, вряд ли можно отнести к клиническим способам, тем более, что требуется для производства исследования сравнительно много крови.
- 4) Методы O. Kraus'a, Коварского и Bang'a являются собственно клиническими способами.
- 5) Наиболее точным, непродолжительным и требующим самое незначительное количество крови является микрометод Bang'a.
- 6) Метод Коварского при той же точности более хлопотлив и требует несколько большее количество крови.
- 7) Метод O. Kraus'a менее хлопотлив, чем метод Коварского, но за то более субъективен и требует еще больше крови.

В заключение приношу искреннюю благодарность многоуважаемому профессору Академику М. В. Ивановскому, как за предложенную тему и руководство при ее исполнении, так и за пополнение моего медицинского образования в его клинике.

Искренне благодарю многоуважаемого профессора М. Д. Ильина за руководство и за разрешение работать в его лаборатории.

Благодарю лаборанта физиолого-химической лаборатории М. Я. Галвяло за советы по технике физиолого-химических анализов.

Горю благодарю сверх-штатного ассистента кафедры физиологической химии Я. П. Грацианова за его постоянное руководство и помощь во все время исполнения работы.

Ассистента Клиники И. И. Соболева и товарищей—ординаторов благодарю за добрые ко мне отношения, а Г. Д. Инфантова, кроме того, благодарю за помощь во время работы с колориметрическими методами и при печатании этой диссертации.

ЛИТЕРАТУРА.

1) M. Abeles. Ueber ein Verfahren zum Enteiweissen des Blutes für die Zuckerbestimmung Zeitschr. f. physiol. Chemie. B. 15. 1891.
 2) Schenk. Ueber Bestimmung und Umsetzung des Blutzuckers. Pflügers Archiv, für die gesamte Physiologie 55, 1894.
 3) Bang, L. H. Lyttkens und I. Sandgren. Ueber die Bestimmung des Blutzucker. Zeitschr. für physiol. Chemie B. 65 1910.
 4) Michaelis und Rona. Eine Methode zur Bestimmung von Kolloiden aus ihren Lösungen insbesondere zur Enteiweissung von Blutsrum Bioch. Zeitschr. B. 2. 1907.
 5) — Untersuchungen über den Blutzucker. Biochem. Zeitschr. B. 7. 1907.
 6) Rona und Oppler. Untersuchungen über den Blutzucker. Biochem. Zeitschr. B. 13. 1908.
 7) Herzfeld. Ueber eine quantitative Zuckerbestimmungsmethode in Blute. Zeitschr. f. physiol. Chemie B. 77. 1912.
 8) Neuman Wender. Methyleneblau zum Nachweis und zur Bestimmung von Zucker in Harn. Pharm. Post. 26. urraposano no Chem. Zentralblat. 1893. II. S. 671.
 9) Taschau. Eine neue Methode der Bestimmung des Blutzuckergehaltes. Deutsche Archiv f. klinisch. Medicin. B. 102. 1911.
 10) Bertrand. Les dosage de sucres réducteurs. Bullet. de société chim. de Paris. 35 1906.
 Moeckel und Frank Eine einfaches Verfahren der Blutzuckerbestimmung.
 11) Mittheilung. I. Zeitschr. f. physiol. Chemie. B. 65. 1910.
 12) Mittheilung. II. Zeitschr. f. phys. Chemie. B. 69. 1910.
 13) Kovacsáti, A. Eine Methode zur Bestimmung des Zuckergehaltes in kleinen Blutmenngen. Deutsche Medicinische Wochenschr. 1913. № 34.
 14) L. Michaelis. Eine Mikroanalyse des Zuckers im Blut. Biochem. Zeitschr. B. 59. 1914.
 15) Oscar Kraus und Max Adler. Ueber eine neue Methode der Blutzuckerbestimmung. Wien. Medicin. Wochenschr. № 18. 1913.
 16) — Eine neue Methode der quantitativen Blutzuckerbestimmung. Wien. Medicin. Wochenschr. № 26. 1913.
 17) Ivar Bang. Zur Methodik der Zuckerbestimmung. Biochemisch. Zeitschr. B. 2. 1907.
 18) — Der Blutzucker. Wiesbaden. 1913.
 19) — Zur Methodik der Zuckerbestimmung II. Biochem. Zeitschr. B. 49. 1913.

20) — Eine Verfahren Zur Mikrobestimmung von Blutbestandteilen. Biochem. Zeitschr. B. 49. 1913.
 21) — Ueber die Mikromethode der Blutzuckerbestimmung. Biochemisch. Zeitschr. B. 57. 1913.
 22) Ueber den klinischen Nachweis von Hyperglykämie. Munchen. Medicin. Wochenschr. № 39. 1913.
 23) Nicolaus Roth. Eine Modifikation der Bangschen qualitativen Blutzuckerprobe zur Erkennung der Hypoglykämie. Deutsch. Medicin. Wochenschr. № 10. 1914.
 24) L. Wacker. Untersuchungen über den Kohlenhydratstoffwechsel. I. Mittheilung Eine colorimetrische Blutzuckerbestimmungsmethode. Zeitschr. f. physiol. Chemie. B. 67. 1910.
 25) Pr.-Dz. Forschbach u. Dr Severin. Ueber colorimetrische Blutzuckerbestimmung des Kohlehydrate des Blutes nach Wacker. Centralbl. f. d. ges. Physiol. u. Pathol. d. Stoffwechsels. B. 6. 1911.
 26) L. Wacker. Zur colorimetrischen Blutzuckerbestimmung. Erwidern. Centralbl. f. d. ges. Physiol. und Patholog. d. Stoffwechsels. B. 6. 1911.
 27) Reicher und Stein. Zur Physiologie und Pathologie des kohlenhydratstoffwechsels. Verhandlungen des Kongres. f. inner. Medic. 27. 1910.
 28) — Beiträge zur physiologie und Pathologie des Kohlehydratstoffwechsels. Biochem. Zeitschr. B. 37. 1911.
 29) Pr.-Dz. Forschbach u. Severin. Die Anwendung der Malisch- und Udranskytschen Kohlehydratbestimmung auf das Blut nach Reicher und Stein. Central. f. d. ges. Physiol. und Pathol. d. Stoffwechsels. B. 6. 1911.
 30) Reicher und Stein. Zur Bestimmung des Blutzucker durch Colorimetrie. Erwidern. Zeitschr. f. exp. Pathol. B. 10. 1912.
 31) Pr.-dz. Forschbach und Severin. Die Umgestaltung der Autenriet-Tesdorfschen Methode der Harnzuckerbestimmung für die quantitative Bestimmung des Blutzuckers. Centralbl. f. d. ges. Physiol. und Pathol. d. Stoffwechsels. B. 6. 1911.
 32) — Zur colorimetrisch. Bestimmung des Traubenzuckers in kleinen Blutmenngen. Arch. f. exper. Patholog. und Pharmacol. B. 68. 1912.
 33) Oppler. B. Die Bestimmung des Traubenzuckers in Harn und in Blute. Zeitschr. f. physiol. Chemie. B. 75. 1911.
 34) Schirckauer. Zur methodik der Blutzuckerbestimmung. Berl. klin. Wochenschr. № 49. 1912.
 35) Frank. Eine Bemerkung zu der Arbeit B. Oppler «Bestimmung des Traubenzuckers». Zeitschr. f. physiol. Chemie. B. 78. 1911.
 36) Takahashi Dengo. Bemerkungen zur Zuckerbestimmung in Blute. Biochem. Zeitschr. B. 37. 1911.
 37) Schumm, O. und Hegler. C. Untersuchungen über den Gehalt des Blutes an Zucker unter physiologischen und pathologischen Verhältnissen. I. Mittheilung. Chemisch-physiologischer Teil. Mit. u. d. Hamburg Staatskran.- u. kenanstalter. B. 12. 1911 urraposano no Centralbl. f. Biochem. u. Biophysik 1912.
 38) E. L. Esser. Ueber eine Fehlerquelle bei Blutzuckerbestimmungen in Frosch- und Schildkrötenblut Biochemisch. Zeitschr. B. 54¹ 1914.
 39) W. Griesbach und Strassner. Zur methodik der Blutzuckerbestimmung. Zeitschr. f. physiol. Chemie. B. 88. 1913.

- 40) I. L. Tannhäuser und H. Pfitzer. Ueber experimentelle Hyperglykämie bei Menschen, durch intravenöse Zuckeringiection. München. Medicinisch. Wochenschr. № 39, 1913.
- 41) Rolly und Orstmann. I. Zur. technik der Blutzuckerbestimmung. Biochem. Zeitschr. 48, 1913.
- 42) — II. Der Blutzuckergehalt bei gesunden Menschen unter physiologischen Bedingungen. (ib).
- 43) — III. Der Blutzucker bei künstlicher Hyperthermie. (ib).
- 44) — IV. Der Blutzucker bei fieberhaften und diänoischen Zuständen d. Menschen. (ib).
- 45) — V. Der Blutzuckergehalt bei Anaemie, Leber, Darm und anderen Erkrankungen d. Menschen. (ib).
- 46) Forschbach und Severin. Verhalten des Kohlehydratstoffwechsels bei Erkrankungen von Drüsen mit innere Secretion. Arch. f. exp. Pathol. u Pharmac. B. 75, 1914.
- 47) Prof. v. Noorden. Die Zuckerkrankheit. 5. Aufl. 1910.
- 48) D. H. Salomon. Ueber den Diabetes innocens der Jugendlichen, zugleich ein Betrag zur Frage des renalen Diabetes. Deutsch. Medic. Wochenschr. № 5, 1914.
- 49) Б. Хмельницкий. Арсацетиниова глюкозурия. Русский врач. № 1, 1914.
- 50) E. Sraetz. Анализ мочи. Изд. Карцева. 1913.
- 51) Д. Менделѣевъ. Основы химии. 8 изд. 1906.
- 52) Меньшуткинъ. Органическая химия. 4 изд. 1901.
- 53) О. Гаммарстенъ. Учебникъ физиологической химии. 2 изд. 1906.
- 54) Э. Абдергальденъ. Руководство по физиологической химии. Переводъ со 2-го изд. Т. I. 1913.

ОГЛАВЛЕНИЕ.

I. Колебания количества сахара в крови при физиологических и патологических условиях	3
II. Краткое описание виноградного сахара в химическом отношении	14
III. Методы количественного определения сахара в крови.	17
VI. Клинические методы.	
1. Редукционные:	
Herzfeld'a	21
Taschau	22
Коварскаго	26
Michaelis'a	31
Bang'a	34
O. Kraus и M. Adler'a	43
2. Колориметрические:	
Reicher'a и Stein'a	47
Wacker'a	50
Forschbach' и Severin'a	53
V. Общие условия производства повфрки	58
VI. Описание условий производства и результаты определения по отдельным методам:	
Herzfeld'a	59
Taschau	62
O. Kraus'a	65
Коварскаго	67
Bang'a	71
Wacker	78
Reicher'a и Stein'a	81
VII. Таблицы	87

ПОЛОЖЕНІЯ.

1) При борьбѣ съ заразными болѣзнями въ частяхъ войскъ среди прочихъ мѣръ большое значеніе имѣть правильно проведенная дезинфекція.

2) Прикомандированіе только что окончившихъ Императорскую Военно-Медицинскую Академію врачей къ лечебнымъ заведеніямъ, имѣть большее значеніе, если они одновременно освобождаются отъ несенія обязанностей въ частяхъ войскъ.

3) При леченіи бронхіальной астмы, теченіе которой поддѣрживается обычно катарральными явленіями въ легкихъ, большое значеніе имѣть креозотъ.

4) Изъ средствъ, обрывающихъ припадокъ бронхіальной астмы, болѣе услуги оказываетъ хлораль-гидратъ.

5) При каждомъ случаѣ диабета необходимо производить количественное опредѣленіе сахара въ крови.

6) Только такимъ путемъ можетъ быть разрѣшенъ вопросъ о существованіи почечнаго диабета.