(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bonn.)

Zur Methode der quantitativen Bestimmung des Trauben- zuckers in reinen Lösungen und im Blute.

Von

Adolf Bickel.

Eine zuverlässige Bestimmung kleiner Mengen von Traubenzucker in reiner Lösung ist erst seit den Untersuchungen Pflüger's¹⁾ über diesen Gegenstand möglich, indem Pflüger auf Grund einer grossen Zahl von Einzeluntersuchungen eine Tabelle entwarf, nach der wir aus dem durch die Reduction der Fehling'schen Lösung mit Traubenzucker gewonnenen Kupferoxydul die unbekannte Zuckermenge berechnen können.

Pflüger bestimmte die Menge des Kupfers, welches in dem nach Zusatz einer bekannten Menge von Traubenzucker ausgeschiedenen Kupferoxydul enthalten war, auf zweierlei Weise, entweder wog er das Kupferoxydul als solches, oder er führte es erst in Kupferoxyd oder in metallisches Kupfer über, um dann das Gewicht dieser Körper mit der Wage zu ermitteln. Zweitens aber bestimmte er die Menge des ausgeschiedenen Kupferoxyduls, resp. die des darin enthaltenen Kupfers durch Titration nach der von Volhard angegebenen Methode.

Auf die letztere Art habe ich nun in einer Reihe von Analysen den Kupferwerth, welchen Pflüger für 100 mg Traubenzucker bei seinem Verfahren fand, nachgeprüft.

Die Versuchsanordnung, welche Pflüger vorschreibt, sei hier noch einmal kurz wiederholt.

Traubenzucker wird drei Mal aus Methylalkohol nach der Vorschrift von Soxleth²⁾ umkrystallisirt und bei 100° C. im Trocken-

1) E. Pflüger, Untersuchungen über die quantitative Analyse des Traubenzuckers. Archiv für die ges. Physiologie Bd. 69. 1898.

2) Soxleth, Zeitschr. f. prakt. Chemie Bd. 21.

schränk bis zu constantem Gewicht getrocknet und darauf im Exsiccator abgekühlt. Von diesem Zucker löst man 0,4 g in 100 ccm 2,2 %iger Salzsäure auf. Die Salzsäure hat den Zweck, die Zuckerlösung haltbar zu machen. Durch die Säure wird der Zucker nicht verändert.

25 ccm dieser Lösung enthalten demnach 100 mg Traubenzucker.

Da nun die Säure der Zuckerlösung vor jedem Versuch neutralisirt werden muss, nimmt man eine starke Lösung von Kalilauge, von der bekannt ist, wieviel Cubikcentimeter derselben erforderlich sind, um die Säure einer bestimmten Menge der Zuckerlösung zu neutralisiren. 25 ccm meiner sauren Zuckerlösung wurden von 1,1 ccm meiner Kalilauge neutralisirt.

Die Kupfersulfatlösung wird aus Kupfersulfat hergestellt, welches einmal aus Wasser und etwas Salpetersäurezusatz und drei Mal aus reinem Wasser bei gestörter Krystallisation umkrystallisirt ist. Sodann wird das so erhaltene feine Mehl aus Kupfersulfat zwischen Fliesspapier 24 Stunden an der Luft bei mittlerer Zimmertemperatur getrocknet.

Wie mich entsprechende Versuche belehrten, enthielt ein Molecül CuSO_4 5 Molecüle Krystallwasser.

500 ccm der zur Zuckeranalyse erforderlichen Kupfersulfatlösung enthalten nun 34,639 g $\text{CuSO}_4 + 5 \text{H}_2\text{O}$ bei 18°C .

Die alkalische Seignettesalzlösung enthält in 500 ccm 173 g Seignettesalz, welches drei Mal aus Wasser umkrystallisirt und an der Luft getrocknet ist, und 125 g KOH.

Der Versuch zur Ermittlung des einer Menge von 100 mg Traubenzucker entsprechenden Kupfers, berechnet aus der Masse des ausgeschiedenen Kupferoxyduls, wird nach dem Pflüger'schen Verfahren in folgender Weise angestellt.

Man beschickt ein etwa 300 ccm Flüssigkeit fassendes Becherglas mit:

- 30 ccm Seignettesalzlösung,
- 30 „ Kupfersulfatlösung,
- 1,1 „ Kalilauge,
- 25 „ Traubenzuckerlösung,
- 58,9 „ Wasser.

Das Becherglas, welches man mit einem Uhrglas zudeckt, wird in einen an einem Stativ befestigten Metallring eingehängt und in

ein heftig siedendes Wasserbad so tief eingetaucht, dass das Wasser etwa 1—2 cm über dem Rand der im Becherglas befindlichen Flüssigkeit steht.

Das Wasserbad darf bei dem Einsenken des Glases nicht aus dem Kochen kommen.

Man lässt das Becherglas genau 30 Minuten in dem Wasserbade. Dann wird es an dem Stativ herausgehoben. Man nimmt das Uhrglas ab und fügt der Flüssigkeit im Glase ca. 130 ccm kalten destillirten Wassers zu.

Darauf wird an der Saugpumpe mit Hülfe eines Asbestfilterröhrchens, dem ein Trichter angeschmolzen ist, die Flüssigkeit abgesaugt, das Kupferoxydul, welches in rother Schicht die Oberfläche des Asbestes bedeckt, mit Wasser ausgewaschen und nunmehr in Salpetersäure von 1,2 spec. Gewicht gelöst, nachdem das Asbestfilterröhrchen einer reinen Saugflasche aufgesetzt ist. Dabei darf man nicht vergessen, den Trichter des Asbestfilterröhrchens mit einem Uhrglas zuzudecken, weil das sich lösende Kupferoxydul mächtig aufschäumt und Theilchen der Flüssigkeit oder des Kupfers aus dem Filterapparate herausspritzen könnten.

Wenn das salpetersaure Kupfer ohne Anwendung der Pumpe das Asbestfilter passiert hat und in die Flasche getropft ist, wäscht man den Filterapparat mit Hülfe der Pumpe gehörig mit Wasser aus.

Die Lösung von salpetersaurem Kupfer mit dem Spülwasser wird dann mit einer ungefähr berechneten Menge von Schwefelsäure versetzt und in einer Porzellanschale bis eben zur Trockene abgedampft. Hierauf fügt man nochmals einige Tropfen von Schwefelsäure zu, nimmt die Krystalle von schwefelsaurem Kupfer in Wasser auf und füllt die Lösung in ein 300 ccm-Kölbchen um.

Nun gibt man der Flüssigkeit einige Tropfen einer concentrirten Sodalösung zu, bis eben ein bleibender Niederschlag entsteht, der von den darauf zuzusetzenden 50 ccm kalt gesättigter schwefliger Säure wieder gelöst wird.

Man kocht jetzt die Flüssigkeit in dem 300 ccm-Kölbchen auf und fügt so viel einer Rhodanammionumlösung von bestimmter Concentration hinzu, bis die blau-grüne Kupferfarbe vollständig verschwunden ist. Es bildet sich ein feinflockiger Niederschlag von Kupferrhodanür, der in einer wasserhellen Flüssigkeit schwimmt.

Nun lässt man das Ganze erkalten, füllt das 300 ccm-Kölbchen bis zur Marke mit Wasser auf und schüttelt gehörig um.

Darauf wird die Flüssigkeit durch ein trockenes Filter filtrirt, und es werden von dem klaren Filtrat 100 ccm genommen, in denen man das überschüssige Rhodan bestimmt.

Man kann dann aus der Menge des zur Bindung des Kupfers verwandten Rhodans den Werth des Kupfers selbst berechnen.

Die Titration des Rhodans wird mittelst einer Lösung von salpetersaurem Silber vorgenommen, die eine genau bekannte Concentration besitzt.

1 ccm der Rhodanammoniumlösung entspricht andererseits 1 ccm der Silberlösung.

Das Verfahren bei der Titration ist folgendes.

100 ccm des auf die oben beschriebene Weise erhaltenen Filtrats werden in ein geräumiges Becherglas gespült. Hierzu setzt man 50 ccm Salpetersäure von 1,2 spec. Gewicht und 10 ccm einer kalt-gesättigten Eisenammoniakalaunlösung. Die Flüssigkeit nimmt eine tiefrothe Farbe an.

Nun lässt man so lange Silbernitratlösung zutropfen, bis die rothe Farbe vollständig verschwunden ist und titirt nun den Ueberschuss an Silbernitrat mit Rhodan zurück, bis ein schwach gelbröthlicher Farbenton das Ende der Titration anzeigt.

Die Titration ist dann beendet, wenn das Becherglas mit Fliesspapier zugedeckt 24 Stunden im Dunkeln gestanden hat, ohne dass ein Verschwinden des röthlichen Farbentons eingetreten ist. Häufig findet das nämlich unter diesen Umständen statt, und das beweist, dass man anfänglich einen oder auch zwei Tropfen Rhodan zu wenig hinzugesetzt hatte. Man muss dann eben die fehlende Menge des Rhodans bis zum Beginne der Rothfärbung noch zufügen und in Anrechnung bringen.

Bei der ganzen Analyse kommt es in erster Linie darauf an, dass die Silberlösung richtig steht, d. h. dass man ihren Gehalt an salpetersaurem Silber ganz genau kennt. Ich prüfte meine Silberlösung daher, wie es auch Pflüger gethan hat, auf zweierlei Art, sowohl indem ich das Silber als Chlorsilber fällte und wog¹⁾, als auch mit Hülfe des Mulder'schen Gleichgewichtspunktes.

1) Bei diesen Untersuchungen machte ich eine Beobachtung, welche nicht allgemein bekannt sein dürfte. Ich fand nämlich, dass, wenn man eine Lösung von salpetersaurem Silber kocht und mit einem grossen Ueberschuss von concentrirter Chlorwasserstoffsäure versetzt und dann mit dem Kochen längere Zeit

Nach dem Mittel der so gewonnenen Resultate enthielt meine Silberlösung in 1 ccm Lösung = 0,0171245 g AgNO_3 .

Oder:

$$1 \text{ ccm } \text{AgNO}_3 = 1 \text{ ccm Rh} = 6,3811 \text{ g Cu.}$$

Ich bestimmte nun den Kupferwerth, welchen 100 mg Traubenzucker nach der Pflüger-Volhard'schen Kupferrhodanürmethode liefern.

Tabelle I.

	Zucker	Kupfer
1.	100 mg	211,1297 mg
2.	100 "	211,4561 "
3.	100 "	211,8294 "

Mittelwerth 211,4717 mg Cu

Der Mittelwerth, welchen ich nach diesen drei Analysen für das nach dem Pflüger-Volhard'schen Verfahren mit 100 mg Traubenzucker gewonnene Kupfer, berechnet aus dem abgeschiedenen Kupferoxydul, erhalte, beträgt demgemäss

$$211,4717 = 211,5 \text{ mg Kupfer.}$$

Pflüger erhielt bei seinen Versuchen nach dieser Methode folgende Kupferwerthe für 100 mg Traubenzucker.

Tabelle II. (Nach Pflüger.)¹⁾

	Zucker	Kupfer
1.	100 mg	212,05 mg
2.	100 "	212,75 "
3.	100 "	211,86 "
4.	100 "	211,29 "
5.	100 "	212,06 "
6.	100 "	213,19 "
7.	100 "	212,38 "
8.	100 "	211,10 "

Mittelwerth 212,1 mg Cu

fortfährt, dass sich dann der anfänglich gebildete Niederschlag von Chlorsilber wieder löst. Die Lösung ist gelblich gefärbt. Versetzt man die letztere nach ihrem Erkalten mit viel Wasser, so scheidet sich das Chlorsilber wieder aus.

1) Pflüger, l. c. S. 437.

Es besteht also zwischen dem Mittelwerthe für Kupfer meiner drei und demjenigen der acht Pflüger'schen Analysen eine Differenz von 0,6 mg.

Aber es erhellt aus einer Vergleichung der beiden Tabellen, dass sich die von mir gefundenen Zahlen im Rahmen der von Pflüger zur Bestimmung des Kupferwerthes für 100 mg Traubenzucker bei der Kupferrhodanürmethode herangezogenen Grössen bewegen.

Nachdem ich so die Richtigkeit der Pflüger'schen Bestimmungen noch einmal nachgeprüft hatte, wandte ich mich Untersuchungen über den Zuckergehalt thierischer Gewebe, und speciell über denjenigen des Blutes zu. Denn man muss erwarten, dass jetzt, nachdem Pflüger der quantitativen Analyse des Traubenzuckers eine gefestigte Grundlage gegeben und die Methode der Zuckerbestimmung zu einer bis dahin unerreichten Genauigkeit geführt hat, dass jetzt wir entsprechend den vollkommeneren Methoden auch mit grösserer Sicherheit uns über den Gehalt des thierischen Organismus an Kohlehydraten werden unterrichten können.

Der exacten quantitativen Bestimmung des Traubenzuckers in Eiweisslösungen, wie z. B. im Blute, stellten sich nun ganz erhebliche Schwierigkeiten entgegen.

Zur quantitativen Bestimmung des Traubenzuckers in derartigen Lösungen ist es vor allen Dingen einmal nöthig, den Zucker vom Eiweiss vollständig zu trennen, zweitens aber ihn in Lösungen zu erhalten, welche gegen den Zucker selbst sich in der Hitze sowohl, wie in der Kälte indifferent verhalten, und die auch keine Stoffe in sich beherbergen, welche auf die regelrechte Ausscheidung des Kupferoxyduls beim Kochen der den Zucker enthaltenden Lösung mit Kupfersulfat und Seignettesalz-Kalilauge einen störenden Einfluss ausüben.

Da man es bei Extracten thierischer Gewebe, in denen man den Zucker bestimmen will, immer mit mehr oder weniger stark wässerigen Lösungen zu thun hat — denn ohne tieferen Eingriff, bei dem man allein schon Gefahr läuft, den Zucker selbst zu zerstören, kann man die Gewebe niemals vor einer Extraction ganz wasserfrei machen —, so war es in erster Linie erforderlich, den Einfluss zu studiren, welchen das Wasser auf den Traubenzucker bei hoher und niedriger Temperatur besitzt.

In der Literatur fand ich eine Angabe von Pavy¹⁾, die besagt, dass Traubenzucker, der aus „Alkohol“ umkrystallisirt war, nach zwölfstündigem Kochen in Wasser einen Verlust von 52 % aufwies. Die ursprüngliche Menge des Zuckers betrug 1,146 g, von denen er nach zwölfstündigem Kochen nur noch 0,558 g wiederfand.

Wie Pavy angibt, geht Hand in Hand mit der Zersetzung des Zuckers eine röthliche Färbung der Flüssigkeit.

Ob Pavy auf dem Drahtnetz über der Flamme des Bunsenbrenners oder ob er im siedenden Wasserbade gekocht hat, geht aus seiner Mittheilung nicht hervor. Auch macht er keine Angabe darüber, ob er destillirtes Wasser, oder ob er gewöhnliches Brunnenwasser bei seinen Analysen verwandt hat.

Wir werden sehen, dass, was das Wasser anlangt, es keineswegs gleichgültig ist, welches man zu dem Versuch nimmt.

Pavy stellte seine Versuche so an, dass er in eine Kochflasche die Zuckerlösung brachte und auf ein Liter mit Wasser auffüllte. Das verdunstende Wasser wurde von Zeit zu Zeit ersetzt. Ehe am Schlusse der Kochzeit der Zucker analysirt wurde, füllte er die Flüssigkeit wieder genau zu einem Liter mit Wasser auf.

Bei der Unvollständigkeit der Angaben Pavy's über die Art und Weise des Versuchs ist es nicht erlaubt, aus den beigegebenen Analysen einen Schluss zu ziehen über das Verhalten des Zuckers chemisch reinem Wasser gegenüber bei verschiedenen Temperaturen.

Um einen Aufschluss darüber zu bekommen, ob der Traubenzucker durch Kochen mit destillirtem Wasser Veränderungen erfährt, stellte ich folgende Versuche an:

Versuch I.

0,5 g Traubenzucker, der aus Methylalkohol dreimal umkrystallisirt war, wird in 500 ccm aqua destillata aufgelöst und sechs Stunden auf dem Drahtnetz über der Flamme eines Bunsenbrenners gekocht.

Die Zuckerlösung befindet sich in einem Kochkolben aus hartem Glas, welches bei $\frac{1}{2}$ stündigem Kochen mit reinem Wasser und einigen Tropfen neutraler Lackmustinctur die Farbe der letzteren nicht verändert. Die Oeffnung des Kolbenhalses wird mit einem Uhrglas bedeckt. An demselben verdichten sich die beim Kochen entweichenden Wasserdämpfe zum Theil wieder zu Wasser, so dass es wie ein Rückflusskühler wirkt. Dennoch ist es bei dem so sehr heftigen Kochen von Zeit zu Zeit nöthig, Wasser nachzufüllen.

1) F. W. Pavy, The quantitative determination of sugar in blood. The Journal of Physiology t. 20 p. VII. 1896. Proc. of the Phys. Soc.

Die Zuckerlösung im Kolben zeigt trotz sechsstündigen, energischen Kochens nicht die geringste Farbenveränderung. Diese soll nach Pavy, wie wir angaben, das Zeichen der eintretenden Zersetzung des Traubenzuckers sein.

Nun werden der Zuckerlösung ca. 20 ccm einer 1,5 % Na_2CO_3 Lösung zugefügt, und man kocht die Flüssigkeit von neuem auf dem Drahtnetz.

Nach kurzer Zeit entsteht der von Pavy beschriebene goldrothe Farbenton, und die Flüssigkeit zeigt einen deutlich ausgesprochenen caramelartigen Geruch.

Versuch II.

Ein Kolben aus hartem Glas wird mit 25 ccm einer Zuckerlösung¹⁾, welche 0,1036 g Dextrose enthalten, beschickt. Dazu werden 500 ccm aqua dest. gefügt. Ein Uhrglas deckt die Oeffnung des Kolbens. Letzterer wird an einem Stativ befestigt und in ein kochendes Wasserbad getaucht und darin 24 Stunden ohne Unterbrechung gelassen.

Sodann wird die Flüssigkeit, welche man wegen des wie ein Rückflusskühler wirkenden Uhrsälchens kaum zu erneuern braucht, in eine Porzellanschale gegossen und auf dem Wasserbade bis auf ca. 10 ccm eingeengt. Diese giesst man in ein 50 ccm Kölbchen und spült die Porzellanschale gleichfalls in dasselbe aus. Das Kölbchen wird bis zur Marke mit destillirtem Wasser aufgefüllt.

Nun bestimmt man den Zucker nach der Kupferrhodamürmethode, indem man also

30 ccm Seignettesalzlösung,
30 ccm Kupfersulfatlösung,
50 ccm Zuckerlösung,
35 ccm aqua destillata

zusammen in ein Becherglas füllt und auf die eingangs beschriebene Art weiter behandelt. Mit den 35 ccm Wasser wird das Kölbchen, in dem sich die Zuckerlösung befand, ausgespült.

Ich erhielt von den zugesetzten 0,1036 g Traubenzucker nach dem 24stündigen Kochen und dem darauf folgenden Abdampfen 0,1005 g wieder, d. h. ich hatte einen Verlust von

0,0031 g Dextrose
oder 2,982 %.

Versuch III.

Die Anordnung dieses Versuches war dieselbe wie diejenige des Versuches Nr. II. Nur betrug die Menge des zugesetzten Traubenzuckers in 25 ccm seiner Lösung 0,1136 g, und ich erhielt davon wieder: 0,1094 g; d. h. ich hatte einen Verlust von

0,0042 g Dextrose
oder 3,626 %.

1) In allen folgenden Versuchen bediente ich mich einer Zuckerlösung, welche mit destillirtem Wasser hergestellt war.

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass chemisch reines Wasser auch bei hoher Temperatur auf die Dextrose keinen zersetzenden Einfluss hat. Die drei, resp. vier Milligramme, welche sich als Verlust herausstellten, liegen innerhalb der Grenzen des Versuchsfehlers.

Aus dem ersten Experiment erfahren wir, dass selbst heftiges Kochen auf dem Drahtnetz über offener Flamme bei reinen Reagentien nicht die roth-goldene Verfärbung zu Stande bringen kann, welche Pavy beobachtet hat, und die er als den Index einer eintretenden Zersetzung des Zuckers ansieht.

Zu gleicher Zeit aber lehrt uns der Versuch, dass, sobald die Zuckerlösung durch Zusatz von Soda alkalisch gemacht wird, die von Pavy beschriebenen Verfärbung der vorher klaren Flüssigkeit auftritt.

Diese Versuche, welche zur allgemeinen Orientirung dienten, mussten den Verdacht nahe legen, dass, da chemisch reines Wasser, wie ich bewies, den Zucker trotz langanhaltenden, heftigen Kochens nicht zu verändern vermag, Pavy nicht mit reinen Substanzen gearbeitet habe.

Denn wie liesse sich sonst die Verschiedenheit der Resultate meiner Versuchen von den Resultaten der Versuche Pavy's erklären angesichts der Vorsichtsmaassregeln, welche ich bei der Ausführung meiner Experimente angewandt habe?

Ich stellte nun weiterhin eine zweite Gruppe von Versuchen an, in denen ich der Zuckerlösung statt, wie in den früheren Versuchen, der 500 ccm destillirten Wassers dieselbe Quantität Wasser aus der Bonner Wasserleitung zusetzte.

Dieses Wasser ist ausserordentlich reich an kohlensaurem Kalk, und eine Reihe von Bestimmungen seines Alkaligehaltes ergab folgende Werthe:

100 ccm Wasser	=	4,90	ccm	$\frac{1}{10}$	Normal-Salzsäure
100 " "	=	4,88	"	"	" "
100 " "	=	4,89	"	"	" "
100 " "	=	4,88	"	"	" "

Der Versuch selbst wurde nun folgender Maassen in Gang gesetzt.

Versuch IV.

Ein Kolben aus Hartglas von ca. 1 Liter Inhalt wird beschickt mit 25 ccm Zuckerlösung = 0,1136 g Dextrose und 500 ccm Brunnenwasser. Derselbe wird,

wie in den früheren Versuchen, an einem Stativ befestigt und in ein siedendes Wasserbad gesenkt, worin er 26 Stunden verbleibt.

Nach kurzer Kochdauer schon zeigt der Inhalt des Kolbens eine deutlich gelbliche und etwas später eine mehr rothgoldene, weinartige Färbung, und die Flüssigkeit nimmt einen caramelartigen Geruch an.

Bei der quantitativen Bestimmung des Traubenzuckers nach der 26stündigen Kochzeit ergab sich ein Kupferwerth, der kleiner war als der niedrigste Werth, welchen die Pflüger'sche Tabelle anzeigt. Daraus folgt, dass die Menge des eventuell nach dem Kochen noch vorhandenen Traubenzuckers zu gering war, um noch mit Sicherheit ermittelt werden zu können. Wir setzen aus diesem Grunde den Werth Null für sie ein, da sie praktisch wegen der Unmöglichkeit ihrer Bestimmung für uns nicht mehr in Betracht kommt.

Dieser Versuch ist geeignet, uns auf's Neue in der Meinung zu bestärken, dass der Grund für die Zersetzung des Zuckers beim Kochen seiner wässerigen Lösung in der alkalischen Reaction (Prüfung mit Lackmuspapier) derselben gesucht werden muss, einer Reaction, die durch die gleichzeitige Anwesenheit alkalisch wirkender Substanzen in der Zuckerlösung bedingt ist.

Es handelt sich nun darum festzustellen, ob reine Lösungen derartig alkalisch wirkender Substanzen mit Zuckerlösung gekocht, eine solche Zersetzung der Dextrose hervorbringen können.

Zu diesem Ende stellte ich die folgenden Versuche an, indem ich auf die Körper besonders Rücksicht nahm, welche bei der Untersuchung des Blutes, um die es sich für mich zunächst handelt, eventuell störend auf die Analysen einwirken können.

Von alkalisch in ihrer Lösung reagirenden Salzen findet sich im lebenden Blut in erster Linie das kohlen saure Natrium.

Hatte ich schon bei dem Versuch Nr. 1 festgestellt, dass das Kochen einer Zuckerlösung mit diesem Körper eine Veränderung in der Farbe der Flüssigkeit hervorruft — eine Erscheinung, die nach Pavy auf eine Umsetzung des Zuckers hinweist —, so kam es mir jetzt darauf an, genau den eventuellen Verlust an Zucker festzustellen.

Versuch V.

Die Versuchsanordnung ist dieselbe wie vorher. Nur enthält der Kolben diesmal:

25 ccm Zuckerlösung = 0,1136 g Dextrose plus:

500 ccm einer 0,5 %igen Na_2CO_3 Lösung $\frac{1}{2}$ (alkalische Reaction!).

Die Kochdauer im Wasserbade beträgt 22 Stunden.

Der Zuckerwerth nach dem Kochen ist gleich Null.

Versuch VI.

Versuchsordnung wie Nr. V.

Kochdauer 6 Stunden.

Dann wird die Flüssigkeit erkalten und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen lassen.

Abdampfen in der Porzellanschale und Zuckeranalyse.

Wiedergefundener Zucker gleich Null.

Diese beiden Versuche sind so eindeutig, wie nur irgend möglich. Sie beweisen, dass, wenn man Traubenzucker mit Sodalösung kocht, der Zucker sich zersetzt.

Da man nun in der Literatur vielfach die Angabe findet, dass bei der Untersuchung des Blutes auf Zucker das Blut mit Hülfe der Essigsäure-Kochmethode enteiweisst wird, und da diese Methode von den Autoren sogar als eine sichere empfohlen zu werden pflegt, so erschien es mir zweckmässig, diese Methode insofern einmal auf ihren Werth zu prüfen, indem ich feststellte, ob das bei dieser Coagulationsmethode aus der zugesetzten Essigsäure und dem kohlensauren Natrium des Blutes doch höchst wahrscheinlich entstehende essigsaure Natrium nicht auch Zucker zerlegende Eigenschaften besässe.

Versuch VII.

500 ccm einer 2 %igen Lösung von essigsaurem Natrium¹⁾ werden mit 100 ccm einer Zuckerlösung, die in dieser Quantität 0,5 g Traubenzucker enthält, in einem Kolben auf dem Drahtnetz über der Flamme des Bunsenbrenners gekocht. Der Zucker war dreimal aus Methylalkohol umkrystallisirt.

Nach etwa halbstündigem Kochen beobachtet man eine gelbliche, nach längerem Kochen eine mehr rothgoldene Verfärbung der Flüssigkeit.

1) Das essigsaure Natrium wurde auf folgende Weise dargestellt: Etwa 200 g doppelkohlensauren Natriums werden mit viel Eisessig übergossen. Unter Entweichen von Kohlensäure löst sich das Salz auf. Nachdem alles gelöst ist, hat die Flüssigkeit noch eine sehr starke saure Reaction und riecht intensiv nach Essig. Dann dampft man die Flüssigkeit in der Porzellanschale auf dem Wasserbade ab, nimmt das sich ausscheidende essigsaure Natrium in Wasser auf, dampft wieder ab und fährt so fort, bis alle freie Essigsäure verjagt ist und die Salzlösung alkalische Reaction angenommen hat. Das auf diese Weise gebildete essigsaure Natrium hat sich bei dem Abdampfen nicht versetzt, wie ich mich durch entsprechende Versuche überzeugte, so dass ich also sicher bin, nur mit reinen Lösungen von essigsaurem Natrium gearbeitet zu haben.

Versuch VIII.

Ein Kochkolben wird beschickt mit

25 ccm Zuckerlösung = 0,1136 g Dextrose und

500 ccm einer 1 %igen Lösung von essigsäurem Natrium. (Alkalische Reaction!)

Weitere Versuchsanordnung wie früher. Kochen im Wasserbade.

Kochdauer: 18 Stunden.

Wiedererhaltene Zuckermenge: 0,0753 g.

Verlust an Traubenzucker: 0,0383 g.

Oder: 33,7 %.

Um die Verhältnisse bei der Coagulation des Blutes mit Essigsäure möglichst getreu nachzuahmen, stellte ich noch das folgende Experiment an. Es ist dabei zu erinnern, dass man bei der Coagulation des Blutes nach dieser Methode nur sehr wenig Essigsäure anwenden darf, will man ein schönes feinflockiges Coagulum erzielen.

Versuch IX.

Ein Kolben wird beschickt mit

25 ccm Zuckerlösung = 0,1136 g Dextrose,

200 ccm einer ca. 4 %igen Na_2CO_3 -Lösung,

300 ccm aqua destillata.

In diese Flüssigkeit wirft man ein Stückchen Lackmuspapier und setzt dann so lange Essigsäure zu, bis eine saure Reaction auftritt.

Die Oeffnung des Kolbenhalses wird diesmal nicht mit dem Uhrglas zugedeckt.

Die weitere Versuchsanordnung wie gewöhnlich.

Da man nur einen sehr geringen Ueberschuss von Essigsäure zugesetzt hat, geht beim Kochen im Wasserbade mit den Wasserdämpfen die freie, nicht an das Natrium gebundene Säure bald fort, zumal diese sehr flüchtiger Natur ist. Das verdampfende Wasser wird von Zeit zu Zeit erneuert.

Zuletzt befindet sich in dem Kochkolben nur noch essigsäures Natrium. Da dieser Körper aber in seiner Lösung stark alkalisch reagirt, bemerkt man, wie sich der vorher in den Kochkolben geworfene Lackmuspapierstreifen blau färbt.

Ungefähr gleichzeitig damit tritt bei der Flüssigkeit die im Versuch Nr. VII beschriebene Farbenveränderung ein.

Die gesammte Kochdauer betrug 28 Stunden.

An Zucker wurden wiedergefunden 0,0195 g.

Das bedeutet einen Verlust von 0,0941 g oder

83,1 % Dextrose.

In diesem Versuch wurde nur ein geringer Ueberschuss an Essigsäure zugesetzt. Nach einigen Stunden Kochens war die Säure verdampft, und es hatte die zuckerhaltige Flüssigkeit durch die An-

wesenheit des essigsauren Natriums alkalische Reaction angenommen. Nun drängte sich mir die Frage auf, ob das essigsaure Natrium immer bei seiner Gegenwart oder ob es nur bei alkalischer Reaction der es enthaltenden Flüssigkeit die zuckerzersetzende Kraft besitze.

Zur Entscheidung dieser Frage stellte ich das folgende Experiment an:

Versuch X.

Anordnung des Versuches wie Nr. IX.

Nur wird ein bedeutender Ueberschuss an Essigsäure zugesetzt und darauf geachtet, dass die Flüssigkeit stets sauer reagirt. Auch bei der Einengung in der Porzellanschale muss das der Fall sein.

Kochdauer 40 Stunden.

Zugesetzte Zuckermenge: 0,1136 g.

Wiedergefundene Zuckermenge: 0,1092 g.

Demnach betrug der Verlust an Dextrose: 0,0044 g.

Angesichts der hohen Verluste, welche man erhält, wenn man die Dextrose mit essigsaurem Natrium allein kocht (33,7 und 83,1 %!), wie andererseits in Anbetracht der ganz ausserordentlich langen Kochdauer von 40 Stunden im Versuche Nr. X, darf aus dem Resultate dieses Versuches der Schluss gezogen werden, dass bei Gegenwart der zuckerzersetzenden Körper die Zerstörung des Zuckers nur dann statt hat, wenn alkalische Reaction gleichzeitig in der Flüssigkeit herrscht, dass saure Reaction hingegen den Zucker vor der Zersetzung behütet.

Die 4,4 mg Dextrose, welche in dem Versuch Nr. X nicht wiedergefunden wurden, liegen bei der Art und Weise der Versuchsanordnung innerhalb der Grenzen des Versuchsfehlers. In keinem Falle folgt aus diesem Experiment, zumal wenn man sein Resultat mit denjenigen der Versuche Nr. VIII und Nr. IX vergleicht, dass eine Zersetzung des Zuckers in Folge des Kochens stattgefunden habe.

Entsprechend dem kohlensauren und essigsauren Natrium wirken auf den Zucker verändernd das phosphorsaure Natrium wie Kali- und Natronlauge. Von einer derartigen Wirksamkeit dieser Körper habe ich mich allerdings nur so überzeugt, dass ich Zuckerlösungen mit Lösungen dieser Substanzen versetzte und in einem Kolben auf dem Drahtnetz über der Flamme des Bunsenbrenners längere Zeit kochte. Es trat dann die eigenthümliche Farbenveränderung in der

Flüssigkeit auf, welche wir oben als charakteristisch für die Zuckerzersetzung kennen lernten. Desgleichen machte sich der caramelartige Geruch geltend.

Wie vorsichtig man beim Arbeiten mit zuckerhaltigen Flüssigkeiten sein muss, handelt es sich darum, die Dextrose quantitativ zu bestimmen, geht aus den mitgetheilten Versuchen schon zur Genüge hervor. Ganz besonders lehrreich aber sind zwei Experimente, welche ich hier noch mittheilen will, da sie beweisen, welche Sorgfalt man sogar bei der Auswahl der Gefässe, in denen man Zuckerlösungen kocht oder abdampft, beobachten muss.

Versuch XI.

In einen Kolben aus Thüringer Glas¹⁾, von dem ich festgestellt hatte, dass er, wenn man Wasser in ihm kocht, an das Wasser reichlich Alkali abgibt, werden 25 ccm Zuckerlösung = 0,1136 g Dextrose und 500 ccm aqua destillata gebracht. Der Kolben verbleibt dann 26 Stunden im kochenden Wasserbade. Darauf wird die Zuckerlösung in einer Porzellanschale eingeeengt und titirt, wie ich es oben angegeben habe.

Eine Verfärbung der Flüssigkeit war erst sicher erkennbar, nachdem sie durch das Eindampfen eine bestimmte Concentration erlangt hatte.

Die Menge des wiedergefundenen Traubenzuckers betrug:

0,0625 g,

d. h. ich hatte einen Verlust von

0,0511 g

oder von

45 % Dextrose.

Versuch XII.

Die Versuchsanordnung war wie bei Nr. XI. Nur betrug die Kochdauer 16 Stunden.

Von den ursprünglich zugesetzten 0,1136 g Dextrose erhielt ich wieder:

0,0919 g.

Ich hatte demgemäss einen Verlust von

0,0217 g

oder von

18 % Traubenzucker.

Mit Salzen, welche in ihrer wässerigen Lösung gegen Lackmuspapier eine neutrale Reaction zeigen, scheint es erlaubt zu sein, den Zucker zu kochen, ohne dass eine Zersetzung eintritt.

1) Die Kolben, welche ich bei allen andern Versuchen anwandte, waren aus hartem Glas. Ich hatte mich davon überzeugt, dass sie, wenn man Wasser mit neutraler Lackmustinctur in ihnen über der Flamme ca. 30 Minuten kochte, kein Alkali abgaben, welches die neutrale Lackmustinctur hätte blau färben müssen.

Wenigstens widersprechen dem nicht die Versuche, welche ich in dieser Hinsicht angestellt habe, und auf die wir gleich näher eingehen wollen.

Nachdem ich mich davon überzeugt hatte, dass, wenn man Traubenzucker mit einer Bromnatrium- oder Chlornatriumlösung auf dem Drahtnetz über der Flamme des Bunsenbrenners längere Zeit kocht, keine Farbenveränderung statt hat, untersuchte ich eine mit Kochsalz längere Zeit erhitzte Zuckerlösung quantitativ auf ihren Gehalt an Dextrose nach dem Kochen.

Versuch XIII.

Ein Hartglaskolben wird beschickt mit

25 ccm Zuckerlösung = 0,1136 g Dextrose und

500 ccm einer 0,5 %igen NaCl-Lösung. (Neutrale Reaction.)

Das hierzu verwandte Kochsalz war mit concentrirter Chlorwasserstoffsäure aus einer kaltesättigten Kochsalzlösung gefällt worden. Durch Auswaschen mit Wasser unter Anwendung der Saugpumpe, wie durch Erhitzen im Trockenschrank und schliesslich durch Schmelzen im Platintiegel war es vollkommen säurefrei gemacht worden.

Die Kochdauer der zuckerhaltigen Salzlösung im Wasserbade betrug 10 Stunden.

An Zucker fand ich wieder:

0,1081 g.

Demnach hatte ich nur einen Verlust von

0,0055 g Dextrose.

Diese Ziffer reicht nicht im Entferntesten an die Grossen heran, welche ich als Verlust fand, wenn der Zucker mit den in ihrer Lösung alkalisch reagirenden Salzen gekocht wurde.

Versuch XIV.

Versuchsanordnung genau wie bei Nr. XIII. (Bei der Ausführung dieses Versuches ereignete sich ein kleiner Unfall, der die im Vergleich zu Nr. XIII etwas grössere Verlustziffer erklärt.)

Die zugesetzte Zuckermenge betrug 0,1136 g Dextrose.

Die wiedergefundene Menge: 0,1075 g.

Demnach hatte ich hier einen Verlust von 0,0061 g.

In den bisher mitgetheilten Experimenten habe ich den Einfluss studirt, welchen neutrale und alkalische Lösungen beim Kochen mit Dextrose auf die letztere ausüben. Es muss jetzt noch untersucht werden, wie sich verdünnte Säuren diesem Körper gegenüber verhalten.

Einen Beitrag zur Entscheidung dieser Frage liefert in gewisser Beziehung schon der unter Nr. X mitgetheilte Versuch, bei dem ich

zwar kohlensaures Natrium der Zuckerlösung zufügte, aber dann Essigsäure in grossem Ueberschuss hinzuthat und die saure Reaction bis zum Schluss des Abdampfens der Lösung erhielt.

Ferner hatte Herr Geh. Rath Prof. Dr. Pflüger die Liebenswürdigkeit mir mitzutheilen, dass der Titer einer Dextroselösung, die man mehrere Stunden in einer 2,2% Chlorwasserstoffsäurelösung gekocht hat, nicht durch das Kochen mit dieser Substanz verändert wird.

Ich selbst stellte noch folgenden Versuch zur Klärung dieser Verhältnisse an.

Versuch XV.

In einen Kolben wurden

25 ccm Zuckerlösung = 0,1136 g Dextrose,

500 ccm aqua destillata und

Essigsäure bis zur stark sauren Reaction gefügt.

Die saure Reaction wurde bis zum Ende des Abdampfens erhalten.

Die Kochdauer betrug 18 Stunden.

An Zucker fand ich wieder: 0,1105 g.

Ich hatte also nur einen Verlust von

0,0031 g Dextrose.

Man darf auf Grund dieser Versuche annehmen, dass einmal verdünnte Säuren beim Kochen mit Dextrose letztere nicht verändern, und dass andererseits selbst bei Gegenwart von Salzen, die ohne Säurezusatz den Zucker beim Kochen verändern würden, die durch einen Ueberschuss an Säure bedingte saure Reaction der Flüssigkeit genügt, einer Veränderung des Traubenzuckers in Folge des Kochens vorzubeugen.

Aus allen in dieser Arbeit mitgetheilten Experimenten erfahren wir, dass wir bei der quantitativen Analyse des Traubenzuckers — mag es sich nun um wässrige zuckerhaltige Extracte thierischer Gewebe oder um andere wässrige zuckerhaltige Flüssigkeiten handeln — niemals die den Traubenzucker enthaltende Flüssigkeit bei alkalischer Reaction auf höhere Temperatur bringen dürfen, wollen wir nicht Gefahr laufen, einen Theil der zu bestimmenden Dextrose durch den zuckerzersetzenden Einfluss der in ihrer Lösung alkalisch reagirenden Salze, wie ähnlich wirkender Körper zu verlieren. Die saure Reaction verhütet, wie wir gesehen haben, die Veränderung der Dextrose unter diesen Umständen.

In neutraler Lösung bleibt der Zucker gleichfalls unverändert.

Für die Praxis muss man es sich zur Regel machen bei der quantitativen Analyse des Traubenzuckers, wässrige Lösungen, welche denselben enthalten, nur bei saurer Reaction zu kochen, resp. abzdampfen.

Das ist das Hauptergebniss der mitgetheilten Untersuchungen, welche in derartig systematischer Weise bisher von Niemandem angestellt worden sind. Und das ist um so auffallender, als gerade über die quantitative Analyse des Traubenzuckers, sei es in einfacher Lösung oder in thierischen Organen ein ganz ausserordentlich umfangreiches Arbeitsmaterial vorliegt; um so auffallender, sage ich, weil man doch eigentlich erwarten sollte, dass man, ehe man zur quantitativen Analyse eines Körpers und zu seiner Isolirung von anderen Körpern schreitet, vor allen Dingen einmal nachsieht, was man dem betreffenden Körper eigentlich zumuthen darf.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Aufgabe, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geh. Rath Professor Dr. Pflüger für die Anregung zu dieser Arbeit meinen besten Dank auszusprechen.

In gleicher Weise bin ich Herrn Dr. J. Nerking für die Unterstützung, welche er mir bei der Ausführung meiner Versuche zu Theil werden liess, dankbar verpflichtet.