

Ueber die Einwirkung von Mineralsäuren auf Glycogen.

Von

E. Külz und **Dr. A. Borntraeger.**

Dass Glycogen in wässriger Lösung mit verdünnten Mineralsäuren gekocht schliesslich in Traubenzucker übergeht, scheint allgemein als feststehende Thatsache zu gelten. Leider sieht man sich in der Literatur vergeblich nach einer Untersuchung um, aus der die Richtigkeit jener „Annahme“ gefolgert werden kann. Zur endgültigen Entscheidung der Frage schien es uns unumgänglich nöthig, den Zucker, welcher bei der erwähnten Behandlung des Glycogens entsteht, rein darzustellen und genauer zu untersuchen. Zu dem Zwecke wurden 20 grm Glycogen (Pferdeleber) mit 400 ccm Wasser und 60 ccm verdünnter Schwefelsäure¹⁾ (1 Thl. conc. Säure und 5 Thle. Wasser) am Rückflusskühler 7 Stunden im kochenden Wasserbade erhitzt. Nachdem die Schwefelsäure zuerst mit kohlenst. Baryum, zuletzt mit Barytwasser ausgefällt war, wurde das neutral reagirende Filtrat zum Syrup eingedampft und dieser mit Alkohol wiederholt ausgekocht. Aus dieser Lösung schieden sich auch nach längerem Stehen in einem unbedeckten Becherglase keine Krystalle ab, wohl aber entstand eine starke krystallinische Abscheidung, als ein Theil dieser Lösung nach dem Verjagen des Alkohols mit der ursprünglichen (alkoholischen) Lösung vermischt wurde.

Die genaue Untersuchung der krystallinischen Masse ergab Folgendes:

1. Sie glich makroskopisch wie mikroskopisch vollkommen dem Traubenzucker.

1) Das Verhältniss von Säure und Wasser wurde nach den Vorschriften berechnet, welche Fresenius (Anleit. zur quant. chem. Analyse 5. Auflage S. 834) und Will (Anleit. zur chem. Analyse 9. Aufl. S. 375) für die Stärke geben.

2. 0,9440 grm der Substanz (lufttrocken) hinterliessen 0,0035 grm Asche.

3. Eine concentrirte wässerige Lösung ergab selbst mit etwa dem 10fachen Volumen 99,5 procentigen Alkohols (Kahlbaum) versetzt keine Fällung; der Zucker war somit dextrinfrei¹⁾.

4. Mit Barfoed's Reagens gekocht ergab eine wässerige Lösung schnelle Reduction.

5. Die frisch bereitete wässerige Lösung zeigte eine Rotation (6,0 proc.), die sowohl durch Kochen (mit nachfolgender Auffüllung auf das frühere Volumen) als durch 24stündiges Stehen in der Kälte auf die Hälfte (3,0 proc.) sank.

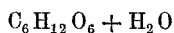
6. Nach 24stündigem Stehen ergab eine wässerige Lösung der Rotation nach einen Traubenzuckergehalt von 1,0 proc., nach der Titrirung (Fehling) von 1,0169 proc.

7. Die Elementaranalyse des im Vacuum über Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Zuckers ergab Folgendes:

0,2582 grm lieferten 0,3440 CO₂, 0,1610 Wasser und 0,0012 Asche.

Berechnet nach der Formel

gefunden



| | | | |
|---|-------|-------|-------|
| C | 36,36 | 36,51 | proc. |
| H | 7,07 | 6,96 | „ |

Zur Darstellung der Kochsalzverbindung wurden 40 cem einer 6procentigen wässerigen Lösung des Zuckers mit 1,2 grm²⁾ chemisch reinen Chlornatriums versetzt, sodann leicht bedeckt der langsamen Verdunstung überlassen. Die nach mehrmonatlichem Stehen gebildeten Krystalle unterschieden sich grossen Theils schon auf den ersten Blick deutlich von Kochsalz- und Traubenzuckerkrystallen. Bei genauerer Untersuchung erwiesen sie sich als rhomboedrisch; eine Vergleichung derselben mit einem Präparat von vorzüglicher Reinheit ergab völlige Identität.

Da bekanntlich auch Traubenzucker-Chlornatrium die Erscheinung der Birotation zeigt, so wurde die polarimetrische Untersuchung einer wässerigen Lösung der ausgeschiedenen Krystalle vorgenommen. Während die Rotation der frisch bereiteten Lösung einem Traubenzuckergehalte von 2,7 proc. entsprach, drehte dieselbe Lösung nach 24stündigem Stehen noch etwa halb so stark (1,4 %).

1) S. Scheibler, Zeitschr. f. anal. Chemie 10, 372.

2) Die Formel $2 \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + \text{NaCl} + \text{H}_2\text{O}$ hätte einen Zusatz von 0,98 grm Chlornatrium verlangt.

Eine wässrige Lösung einiger Krystalle enthielt nach der Fehling'schen Titrirung 1,2933 proc. Traubenzucker, nach der polarimetrischen Bestimmung¹⁾ 1,30 proc.

Von einer Elementaranalyse der Kochsalzverbindung glaubten wir nach diesen Befunden absehen zu dürfen.

Aus je 1 grm Glycogen (Hundeleber, Schweinsleber, Gänseleber, Austern, Lohblüthe) gelang es uns ebenfalls Krystalle von Traubenzucker-Kochsalz zu erhalten.

Auch ohne dass die Vorfrage, ob verdünnte Mineralsäuren unter geeigneten Bedingungen Glycogen in Traubenzucker überführen, gelöst war, hat man sich dieses Verfahrens bereits bedient, theils um das Glycogen indirect zu bestimmen theils zur Entscheidung anderer Fragen. Wir lassen zur Orientirung die einschlägige Literatur folgen.

Picard²⁾ berichtet über Glycogenbestimmungen bei Seefischen Crustaceen und Mollusken. Hinsichtlich der Methode sagt er: „Je n'ai rien à dire de spécial sur les procédés que j'ai employés qui sont classiques: pour rechercher qualitativement la matière glycogène, je l'ai extraite en nature, lavée à l'alcool et transformée en sucre. Pour les dosages, je l'ai transformée en sucre également et dosée avec la liqueur titrée de Fehling.“

v. Wittich³⁾ hat den Glycogengehalt von Lebern, die muthmasslich mehrstündlich post mortem gelegen hatten und sich deshalb zur directen Bestimmung des Glycogens nicht mehr eigneten, indirect ermittelt. „Das Parenchym wurde hierzu möglichst fein geschnitten, mit Wasser in einer Reibschale zerrieben und dann nach Zusatz weniger Tropfen Säure ungefähr 2 Stunden lang unter Erneuerung des Wassers gekocht, dann filtrirt; das klare Filtrat, durch Neutralisiren der Säure von Eiweiss befreit, war glycogenfrei, die absolute Menge jenes wird hierauf gemessen und mit Fehling'scher Flüssigkeit titirt.“

Finn⁴⁾ hat „Glycogenlösung mit Salzsäure versetzt und unter Ersatz des verdampfenden Wassers 4—6 h damit gekocht. Dabei

1) Sie wurde erst vorgenommen, nachdem die Lösung 24 Stunden im Beobachtungsrohr gelegen hatte.

2) Gazette médicale 1874. 617.

3) Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1875. 292.

4) Arbeiten aus d. physiol. Laborat. der Würzburger Hochschule S. 338 (1877) oder Verhandlungen der phys.-med. Gesellschaft N. F. XI. S. 92.

wurden in einem der ganz gleichmässig verlaufenden Versuche folgende Resultate erhalten. Der Zucker wurde mit Fehling'scher Lösung ausfärbt.“

| | | | |
|-----------------------|-----------|-------|-------------------------------------|
| Eiweissglycogen | 0,342 grm | gaben | 0,195 Zucker (51,3 %) ¹⁾ |
| Glyceringlycogen | 0,43 | „ „ | 0,27 „ (56,3 „) |
| Traubenzuckerglycogen | 0,513 | „ „ | 0,26 „ (45,6 „) |

Die optische Untersuchung der erhaltenen Lösungen wurde nach Finn dadurch sehr erschwert, dass „beim Kochen mit Säuren eine gelbliche Verfärbung der Flüssigkeit durch Einkochen an den Randstellen nie zu vermeiden war.“ Ueber den Trockengrad und die Reinheit der verwandten Glycogene sowie über die Menge der Salzsäure macht Finn keine Angaben.

Nach Bernard²⁾ erleidet man bei der Brücke'schen Methode durch die wiederholten Waschungen und Fällungen, welche nöthig sind, um das Glycogen von Quecksilber zu befreien, Verluste; er zieht daher die indirecte Bestimmung des Glycogens (Ueberführung in Zucker durch Salzsäure) vor und verweist betreffs der Methodik auf eine frühere Mittheilung³⁾. Nach dieser soll man ein frisch entnommenes Leberstück wägen und mit Wasser auskochen. „La décoction hépatique qu'on obtient ainsi est généralement rendue opaline par la présence du glycogène qui accompagne le sucre⁴⁾. Lorsque l'opalescence trop forte du liquide gêne le dosage par la liqueur de Fehling, il convient de doser le sucre par différence. On divise le liquide obtenu en deux parties égales: dans l'une on détruit le sucre (glycose) par la potasse, après quoi on transforme le glycogène en sucre par l'addition d'un dixième d'acide chlorhydrique; dans l'autre portion on transforme directement le glycogène par l'acide chlorhydrique et ensuite on dose la teneur en sucre des deux liquides. Il est clair que la différence donne à la fois le sucre et le glycogène hépatiques.“

Ueber die Stärke der verwandten Salzsäure, über die Dauer und die Modalität ihrer Einwirkung vermisst man jede Angabe.

1) Des nach den Formeln $C_6H_{10}O_5$ und $C_6H_{12}O_6$ zu erwartenden Zuckers.

2) Compt. rend. 85, 521 (1877).

3) Compt. rend. 84, 1202 (1877).

4) Si la décoction hépatique est colorée en jaune par des matières biliaires, on ajoute une très-faible quantité de charbon animal, qui dans ces conditions décolore la liqueur sans lui enlever sensiblement ni sucre ni matière glycogène.

Analytische Belege fehlen. Das dürfte weniger eine Methode, als ein Vorschlag zu einer Methode sein, deren Anwendbarkeit erst zu prüfen wäre.

Abeles¹⁾ führte das mittelst seiner Chlorzinkmethode abgechiedene Glycogen (Muskel), anstatt es direct zu wägen, „durch 2—3ständiges Kochen mit einer ganz verdünnten Mineralsäure“ in Zucker über. Ueber Natur und Menge der Säure fehlen Angaben.

O. Nasse²⁾ hat nach Märcker's³⁾ Vorgang Glycogenlösungen mit einprocentiger Schwefelsäure in Druckflaschen bei 110° erhitzt und dann das Reductionsvermögen in einer wiederholt von ihm angegebenen Weise⁴⁾ durch schwefelsaures Kupferoxyd ermittelt.

Seegen⁵⁾ fand stets „dass Salzsäure viel energischer auf die Umwandlung des Glycogens wirke, als Schwefelsäure. Aber auch mittelst Salzsäure ist man nicht im Stande, selbst wenn man mehrere Stunden kocht, mehr als 70—76 proc. des Glycogens als Traubenzucker nachzuweisen. Noch auffallender ist das Verhältniss der Wirkung der beiden genannten Säuren, wenn die mit ihnen versetzte Flüssigkeit im Wasserbade digerirt wird. Während in einer mit SO₃ versetzten Glycogenlösung, nachdem dieselbe drei Tage auf dem Wasserbade bei mässiger Temperatur digerirt wurde, nur wenige Procente Zucker nachgewiesen werden konnten, gab eine mit Salzsäure unter ähnlichen Verhältnissen behandelte Glycogenlösung einen weit beträchtlicheren Zuckergehalt. Die Umwandlung des Glycogens in Zucker gelang aber vollständig, wenn die mit Säure versetzte Lösung in einer aus dickem Glas geformten zugeschmolzenen Röhre im kochenden Wasserbade durch 48—72 Stunden⁶⁾ erhitzt wurde, und auch da zeigte es sich, dass Schwefelsäure längere Zeit in Anspruch nahm als Salzsäure, um die vollständige Umwandlung herbeizuführen.“

„Ein Beispiel aus Vielen möge die gewonnenen Resultate

1) Wiener med. Jahrbücher 1877. 554.

2) Pflüger's Archiv 14, 473 (1877).

3) Journ. f. Landwirthschaft. 20. Jahrgang. S. 59.

4) Pflüger's Archiv 2, 102 u. 11, 145.

5) Pflüger's Archiv 19, 112.

6) Die angegebenen Grenzen sind etwas sehr weit. Im Résumé derselben Arbeit (Satz 6) werden als Grenzen 36—48 Stunden angegeben. Nach einer neueren Angabe (Seegen u. Kratschmer: Pflüger's Archiv 19, 128) sind nur noch 24 Stunden nöthig. Kein einziger glatter Beleg wird mitgetheilt.

klar legen. Ein Gramm Glycogen in Wasser gelöst, mit Speichel versetzt, auf der Ofenplatte durch 24 Stunden stehen gelassen, filtrirt, das Filtrat auf 100 ccm ergänzt. Jodkaliumjodlösung wirkungslos, Alkohol bewirkt an der Berührungsfläche eine minimale weisse Trübung, Zuckerbestimmung ergiebt 0,420 grm für die Gesamttlüssigkeit. Nach weiteren 24 Stunden dasselbe Resultat. Von dieser Lösung wurden 50 ccm mit 5 Tropfen concentrirter ClH versetzt, in einer zugeschmolzenen Röhre im Wasserbad durch 36 Stunden erhitzt. Die Zuckerbestimmung weist jetzt für die Gesamttlüssigkeit 0,980 grm Zucker nach. Wir hatten somit nahezu die gesammte dem Glycogen entsprechende Menge von Traubenzucker erhalten“¹⁾.

Von den am Schluss der Arbeit zusammengestellten Resultaten lassen wir noch Satz 6 wörtlich folgen:

„Durch Kochen mit Säuren (mit Salz- und mit Schwefelsäure) werden ebenfalls nur circa 75% der Glycogenmenge in Zucker und zwar in Traubenzucker umgewandelt. Eine vollständige Umwandlung des Glycogens tritt erst dann ein, wenn die Glycogenlösung in zugeschmolzener Röhre durch 36—48 Stunden im 100° heissen Wasserbade erhitzt wird.“

Die einzige methodische Arbeit, welche nach dieser Richtung vorliegt, verdanken wir Maydl²⁾. Von der Idee geleitet, den Entscheid der Frage, ob die verschiedenen Glycogene identisch sind, einer grösseren Sicherheit entgegenzuführen, hat er Glycogene, die nach Brücke dargestellt und bei 100° C. bis zum constanten Gewicht getrocknet waren, mit verdünnter Schwefelsäure³⁾ in einem Kolben mit aufgesetztem Condensationsrohr gekocht. Von jedem Glycogene wurde eine Aschenbestimmung gemacht und die Asche

1) Diese Behauptung scheint uns wenig zutreffend. Je nachdem man die Formel des Glycogens zu $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$, $11(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5) + \text{H}_2\text{O}$ oder $6(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5) + \text{H}_2\text{O}$ annimmt, würden in dem Seegen'schen Beispiele an der vollständigen Umwandlung des Glycogens 13,11 %, 12,0 %, 11,09 % Traubenzucker fehlen. Was Seegen unter vollständiger Umwandlung des Glycogens versteht, ist uns nicht klar geworden. Ebenso wenig lässt sich aus der neueren Arbeit ersehen, wie bei der indirecten Bestimmung des Glycogens aus dem durch Titriren mit Fehling'scher Lösung erhaltenen Traubenzuckerwerth das Glycogen berechnet wurde.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie 3, 186.

3) Ueber die Menge der angewandten Säure fehlen nähere Angaben.

in Abrechnung gebracht. „Wie der Versuch ergab, genügt 7–8-stündiges Kochen, um die Flüssigkeit, selbstverständlich bei gleichem Volumen, auf constante Drehung und zugleich das Reductionsvermögen auf sein Maximum zu bringen.“ Der Zuckergehalt der Lösungen wurde sowohl polarimetrisch (Wild) als titrimetrisch (Fehling) bestimmt.

„Unter der Voraussetzung, dass bei der vollständigen Zerlegung des Glycogens Traubenzucker entstehe und diesem ein Drehungsvermögen von + 56 zukomme, wurden folgende Zahlen gewonnen:“

| Futter. | Gewebe. | Glycogen in grm. | Traubenzucker in grm laut | | Procente Trauben- zucker (vom Gewichte des Glycogens ¹⁾ laut | |
|----------------------------------|---------|----------------------|------------------------------|------------|--|------------|
| | | | Drehung. | Titrirung. | Drehung. | Titrirung. |
| Fleisch und Erd- äpfel (Hund) | Leber | 0,7797 | 0,7856 | 0,7710 | 100,76 | 98,88 |
| Glycerin | Leber | 0,4374 | 0,4249 ²⁾ | 0,4353 | 97,14 | 99,52 |
| (Huhn) | Muskeln | 0,3756 | 0,3720 | 0,3750 | 99,04 | 99,84 |
| Inulin | Leber | 0,3503 ³⁾ | 0,3192 | 0,3262 | 91,12 | 93,12 |
| (Huhn) | Muskeln | 0,4353 | 0,4250 | 0,4275 | 97,68 | 98,21 |
| Stärkemehl | Leber | 0,2667 | 0,2273 | 0,2323 | 85,23 | 87,10 |
| (Huhn) | Muskeln | | | | | |

„Bei diesen Bestimmungen“, fährt Maydl fort, „hat sich das offenbar unrichtige Resultat ergeben, dass fast in allen Fällen die Menge des zersetzten Glycogens dem Gewicht nach grösser war, als die des aus ihm gewonnenen Zuckers. Da die Zersetzung sicher eine vollständige war, so kann der Grund dieser Abweichung nur in der Beschaffenheit des Glycogens gelegen sein und ich vermurthe als wahrscheinlichsten den, dass das Glycogen noch zu viel hygroskopisches Wasser enthielt.“

Um ein Urtheil über die Zulässigkeit der indirecten Bestimmung des Glycogens auf Grund besonderer Versuche zu gewinnen, glaubten wir uns an die Methoden anlehnen zu müssen, welche zur

1) Maydl giebt in seiner Tabelle nur an, wie viel Traubenzucker laut Drehung resp. Titrirung eine bestimmte Menge Glycogen schliesslich lieferte. Zur schärferen Beurtheilung und besseren Vergleichung haben wir seine Werthe in Procente umgerechnet.

2) Mit Asche.

3) Nicht ganz sicher, Lösung schwach trüb.

Invertirung der Stärke behufs deren quantitativer Bestimmung angegeben worden sind. Wir lassen die hinreichend definirten folgen:

1. Fresenius¹⁾ und Will²⁾ schreiben vor, etwa 0,5 grm Stärke mit 10 ccm Wasser und 1,5 ccm verdünnter Schwefelsäure³⁾ in zugeschmolzenen Röhren 3—6 Stunden lang etwas über 100° C. (z. B. in einer siedenden gesättigten Kochsalzlösung) zu erhitzen, sodann mit kohlens. Natrium zu neutralisiren und nach entsprechender Verdünnung den Zucker zu titiren.

2. Methode von Pillitz⁴⁾: „1—1,3 grm Stärke werden mit ca. 40—50 ccm saurem Wasser (3 ccm verdünnte Schwefelsäure von 1,160 spec. Gew. mit destillirtem Wasser auf 1 Liter erhöht) im zugeschmolzenen Rohre 8 Stunden lang bei 140—145° C. digerirt. Nach Ablauf dieser Zeit werden die Röhren erkalten gelassen, geöffnet, deren Inhalt auf 250 ccm gebracht und mit der Fehling'schen Lösung titirt.“

3) Methode von Sachsse⁵⁾: 2,5—3 grm Stärke werden in einem Kolben mit 200 ccm Wasser und 20 ccm Salzsäure vom spec. Gew. 1,125 3 Stunden am Rückflusskühler im lebhaft kochenden Wasserbade erhitzt. „Hiernach ist die Umwandlung eine vollkommene, d. h. keine Abänderung des Verhältnisses, welches zwischen Wasser, Säure, Zeit und Wärme besteht, vermag aus einem bestimmten Gewicht Stärke mehr Dextrose zu erzeugen, als bei Einhaltung obiger Regeln erzeugt wird.“ Sodann wird mit Kali neutralisirt und, nach dem Auffüllen auf 500 ccm, titirt.

Um die Resultate der Invertirung des Glycogens vergleichen zu können, haben wir die Wasser- und Säuremengen, welche die einzelnen Methoden vorschreiben, auf die angewandte Substanzmenge umgerechnet. Die Titrirung (Fehling) des entstandenen Zuckers wurde, um eine etwaige Oxydation des Kupferoxyduls auszuschliessen, in der Mehrzahl der Versuche nach dem Vorschlage von Ziegler⁶⁾ im Kolben ausgeführt. Bei der Methode nach Will-Fresenius haben wir stets 7—8 Stunden erhitzt, und zwar wurde

1) Anleit. z. quant. chem. Anal. 1864. 834.

2) Anleit. z. chem. Anal. 1873. 375.

3) Nach Fresenius 160 grm Schwefelsäurehydrat im Liter enthaltend.

4) Zeitschr. f. anal. Chem. 11, 54 (1872).

5) Chem. Centralbl. 1877. 733.

6) Neubauer u. Vogel, Harn. 1876. 208.

stets die vorgeschriebene Menge einer Säure angewandt, welche durch Verdünnung von conc. Schwefelsäure auf ihr 5faches Volum erhalten war. Die verwandten Glycogen-Präparate waren stickstofffrei (Prüfung mit Natrium); ihr höchst unbedeutender Aschengehalt ist stets in Abrechnung gebracht worden. Die Details sind aus der nachstehenden Tabelle ersichtlich.

| Methode. | Thier (Organ). | Fütterung. | Substanzmenge. | Trockengrad. | Gramme Traubenzucker laut | | Procente Traubenzucker laut | |
|-----------------|----------------------|------------|----------------|--------------|------------------------------|----------|--------------------------------|----------|
| | | | | | Titrirung. | Drehung. | Titrirung. | Drehung. |
| Will-Fresenius. | Kaninchen (Leber) | Rohrzucker | 0,3020 | 115° C. | 0,2926 | 0,3000 | 96,88 | 99,34 |
| " | " | " | 0,3020 | | 0,3207 | 0,3200 | 106,19 | 105,96 |
| " | " | " | 0,2736 | | 0,2925 | 0,2975 | 106,91 | 108,73 |
| Sachsse. | " | " | 0,2464 | | 0,2396 | 0,2400 | 97,24 | 97,40 |
| " | " | Reisstärke | 0,3963 | | 0,4311 | | 108,78 | |
| " | " | " | 0,3910 | | 0,4385 | | 112,15 | |

Wir haben endlich nach Seegen¹⁾ 0,3947 grm Reisstärke-Glycogen, das ebenfalls bei 115° C. getrocknet war, mit 50 ccm Wasser und 5 Tropfen conc. Salzsäure im zugeschmolzenen Rohr 36 Stunden lang im kochenden Wasserbade erhitzt und erhielten nach Fehling's Titrirung 0,4487 grm (= 113,68 proc.) Traubenzucker.

Die Methode von Pillitz liess sich nicht anwenden, da bei 6 in dieser Weise angestellten Versuchen (theils im Carius'schen Röhrenofen, theils in einem für diesen Zweck eigens angefertigten Oelbade, wobei die vorgeschriebene Temperatur von 140—145° C. nie überschritten wurde) stets eine mehr oder weniger intensive Bräunung des Röhreninhaltes unter Abscheidung brauner oder schwarzer Flocken und theeriger Producte eintrat. Diese Erscheinung trat mit beiden Präparaten auf. Ein erhöhter Druck war in den Röhren nach dem Erkalten nicht vorhanden. Uebrigens hat Munk²⁾ gefunden, dass bei 4—6stündigem Erhitzen einer wässrigen Glycogenlösung im Luftbade auf 140—150° schon ohne Säurezusatz eine gelbe Flüssigkeit von schwach saurer Reaction, bei 150—160° aber eine tief gelbe saure Flüssigkeit resultirt, und dass Traubenzuckerlösungen (l. c. p. 360) sich bei 150° und darüber stark bräunen, ohne dass aber selbst beim Erhitzen auf 170—180°

1) Pflüger's Archiv 19, 113 (1879).

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. 1, 362 (1877).

ein irgend erheblicher Innendruck vorhanden ist. Pillitz giebt nicht an, ob bei Anwendung von Stärke der Röhreninhalt gefärbt war. Bei einigen von uns mit Reisstärke angestellten Versuchen war der Röhreninhalt braun und enthielt starke braune Flocken, indessen war dies nicht zu vergleichen mit den Erscheinungen, welche mit den Glycogenlösungen erhalten wurden. Die Pillitz'sche Methode dürfte auch für die Bestimmung von Stärke nicht sehr zu empfehlen sein¹⁾.

| Abstammung. | Fütterung. | Trockengrad. | Methode der Saccharificirung. | Glycogen in grm. | Gramme Traubenzucker laut | | Procente Traubenzucker (vom Gewichte des Glycogens) laut | |
|--------------------|---------------|--------------|-------------------------------|------------------|---------------------------|-----------|--|-----------|
| | | | | | Titrirung. | Rotation. | Titrirung. | Rotation. |
| Kaninchen (Leber) | Traubenzucker | 100° C. | Will-Fresenius | 0,1468 | 0,1469 | | 100,07 | |
| " | " | 115° C. | Sachsse | 0,4044 | 0,4019 | 0,4000 | 99,38 | 98,91 |
| " | Levulose | " | " | 0,3911 | 0,3864 | 0,4000 | 98,80 | 102,28 |
| " | " | 100° C. | Will-Fresenius | 0,1340 | 0,1322 | | 98,66 | |
| " | Rohrzucker | 115° C. | Sachsse | 0,2464 | 0,2396 | 0,2400 | 97,24 | 97,40 |
| " | " | " | Will-Fresenius | 0,3020 | 0,2926 | 0,3000 | 96,88 | 99,34 |
| " | " | " | " | 0,3020 | 0,3207 | 0,3200 | 106,19 | 105,96 |
| " | " | " | " | 0,2736 | 0,2925 | 0,2975 | 106,91 | 108,73 |
| " | Glycogen | " | " | 0,4880 | 0,4808 | | 98,52 | |
| " | " | " | Sachsse | 0,2126 | 0,2467 | 0,2000 | 116,00 | 94,07 |
| " | Reisstärke | " | " | 0,3963 | 0,4311 | | 108,78 | |
| " | " | " | " | 0,3910 | 0,4385 | | 112,15 | |
| " | " | " | Seegen | 0,3947 | 0,4487 | | 113,68 | |
| " | Glycerin | 100° C. | Sachsse | 0,2243 | 0,2638 | 0,2500 | 117,61 | 111,45 |
| " | Milch | 115° C. | " | 0,3100 | 0,3210 | 0,3000 | 103,55 | 96,77 |
| " | Casein | 110° C. | " | 0,2080 | 0,1983 | 0,2000 | 95,34 | 96,15 |
| " | " | " | " | 0,1265 | 0,1368 | | 108,14 | |
| Schwein (Leber) | " | 115° C. | " | 0,3088 | 0,3130 | 0,3000 | 101,36 | 97,15 |
| " | " | 110° C. | " | 0,1330 | 0,1322 | 0,1540 | 99,40 | 117,89 |
| Kind (Leber) | " | " | " | 0,3082 | 0,3178 | 0,3000 | 103,11 | 97,34 |
| Murmeltier (Leber) | " | 100° C. | Will-Fresenius | 0,2343 | 0,2240 | | 95,60 | |
| Gans (Leber) | " | 115° C. | Sachsse | 0,4194 | 0,4159 | 0,4000 | 99,17 | 95,37 |
| Frosch (Muskeln) | " | 100° C. | " | 0,3580 | 0,3682 | 0,3500 | 102,85 | 97,77 |
| Austern | " | 110° C. | " | 0,3215 | 0,3527 | 0,3500 | 109,70 | 108,86 |

1) Mit Recht sagt ausserdem Sachsse: „Der Haupteinwurf gegen diese Methode gründet sich auf die Verwendung zugeschmolzener Röhren, die bei quantitativen Arbeiten keineswegs wünschenswerth erscheint, sowie auf die Schwierigkeit und Umständlichkeit der Operation überhaupt.“

Aus der Tabelle ergibt sich, dass man nach beiden Methoden (Fresenius-Will und Sachsse) gleich gute Resultate erzielen kann. Wegen ihrer bequemerem und rascheren Ausführbarkeit muss man der Sachsse'schen Methode unbedingt den Vorzug geben. Während man bei der Stärke bisher der Schwefelsäure als invertirendem Mittel den Vorzug vor allen anderen Säuren einräumte, hat Sachsse zum ersten Male die günstigere Wirkung der Salzsäure betont. Für die Verzuckerung des Glycogens haben Bernard¹⁾ und Seegen²⁾ ebenfalls Salzsäure verwandt. Durch vergleichende Versuche, in denen wir Glycogen (0,5 grm) mit Normal-Salzsäure resp. Normal-Schwefelsäure (50 ccm) im kochenden Wasserbade am Rückflusskühler erhitzten, haben wir uns überzeugt, dass die Salzsäure in der That sichtlich schneller wirkt.

Um zu erfahren, wieviel Traubenzucker aus Glycogen verschiedener Abstammung beim Kochen mit Mineralsäuren entsteht, haben wir nach den Methoden von Will-Fresenius und Sachsse eine grössere Versuchsreihe angestellt, deren Details aus der vorstehenden Tabelle ersichtlich sind. Die verwandten Präparate³⁾ waren stickstofffrei (Natriumprobe). Ein etwaiger Aschengehalt wurde gleich in Abzug gebracht. Da bei der optischen Bestimmung des Zuckers, wenn nur geringe Substanzmengen zur Verwendung kamen, starke Multiplicationen vorgenommen werden mussten, so können die so erhaltenen Resultate nicht zur Controlirung der Titirungen dienen. Die hinreichende Uebereinstimmung beider Bestimmungen zeigt aber, dass aus allen Glycogenen Traubenzucker entstanden war. Die Versuche beweisen ferner, dass unter Einhaltung geeigneter Bedingungen aus Glycogen Traubenzuckerkernen entstehen, welche sich den der Theorie nach zu erwartenden nähern. Die Formeln $C_6H_{10}O_5$, $11(C_6H_{10}O_5) + H_2O$ und $6(C_6H_{10}O_5) + H_2O$ verlangen 111,11 resp. 110 und 109,09 proc. wasserfreien Traubenzucker vom Gewichte des Glycogens.

1) Compt. rend. 84, 1202; 85, 521.

2) Pflüger's Archiv 19, 112.

3) Hinsichtlich der nach bestimmter Fütterung gewonnenen Glycogene diene folgende Bemerkung, welche auch für die übrigen in diesem Bande enthaltenen Arbeiten Geltung hat: Kaninchen wurden 6 volle Tage auf Carenz gesetzt. Die in der Rubrik „Fütterung“ aufgeführte Substanz wurde den Thieren mittelst Sonde in den Magen gespritzt. Aus der circa 16 Stunden später herausgenommenen Leber wurde das Glycogen nach Brücke gewonnen.

Auf unsere Bitte hatte Herr Dr. R. Sachsse in Leipzig die Güte, ein von uns aus Hundeleber dargestelltes Glycogen¹⁾ mit Salzsäure nach seiner Methode zu behandeln und den entstandenen Zucker sorgfältigst zu bestimmen. Die Resultate, welche er uns zur Benutzung freundlichst mittheilte, wurden folgendermaassen gewonnen:

Die Quecksilberlösung wurde gegen chemisch reinen, nach dem Verfahren Soxhlet's aus Invertzucker dargestellten Traubenzucker frisch gestellt. Es entsprachen von dieser Lösung 40 ccm 0,13085 Dextrose. Die Kupfer-Bestimmungen wurden gewichtsanalytisch ausgeführt. Die benutzten Flüssigkeiten waren:

173 grm Seignettesalz und 125 grm Kalihydrat in Wasser gelöst und zu 500 ccm aufgefüllt; 34,6 grm Kupfervitriol in Wasser gelöst und zu 500 ccm aufgefüllt. Beide Flüssigkeiten wurden erst vor dem Versuche gemischt. Das Kupferoxydul wurde durch Asbestfilter filtrirt und als Kupfer gewogen (Soxhlet-Allihn'sche Vorschrift²⁾).

Von dem unvollständig getrockneten Glycogen wurde ein Theil bei 100° C. (I), ein anderer Theil bei 110° C. (II) bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

I 0,6000 grm Glycogen gaben bei 100° C. getrocknet 0,5228 grm = 12,87 proc. Wasser.

Zum Verzuckern von 0,5228 grm Trockensubstanz dienten 40 ccm Wasser und 4 ccm Salzsäure (1,125 spec. Gew.). Nach dreistündlichem Erhitzen am Rückflusskühler im kochenden Wasserbade wurde mit Kali neutralisirt und auf 100 ccm aufgefüllt. Von dieser Lösung entsprachen genau

1) 23,5 ccm 40 ccm Quecksilberlösung. Nach obigem Titre enthielten somit 100 ccm 0,5568 grm Dextrose.

2) 17 ccm gaben 0,1825 grm Kupfer. Diese Menge entspricht nach der Allihn'schen Tabelle 93,7 mgr Dextrose. 100 ccm enthalten somit 0,5514 grm Dextrose.

II 0,6350 grm Glycogen gaben bei 110° C. 0,5495 grm = 13,46 proc. Wasser. Uebrige Verhältnisse ganz wie oben.

1) Es war dasselbe Präparat, das wir bereits zu Elementaranalysen benutzt hatten. Ueber seine Darstellung und Eigenschaften haben wir bereits oben (S. 26) ausführlich berichtet.

2) Neue Zeitschr. f. Rübenzucker-Industrie 1879.

40 Kälz u. Borntraeger: Ueb. d. Einwirkung v. Mineralsäuren auf Glycogen.

1) 22,3 cem entsprechen 40 cem Quecksilberlösung d. i. 0,5868 grm Dextrose in 100 cem.

2) 17 cem gaben 0,1940 grm Kupfer

17 " " 0,1920 " "

Mittel 0,1930 " "

entspricht 98,9 mgr Dextrose oder 0,5818 grm in 100 cem.

In der nachfolgenden Tabelle sind die Resultate Sachsse's übersichtlich zusammengestellt.

| Glycogen- menge. | Trocken- grad. | Methode der Zucker- bestimmung. | Traubenzucker in grm. | Procente Traubenzucker vom Gewichte des Glycogens. |
|---------------------|-------------------|---|--------------------------|--|
| 0,5228 grm | 100° C. | Jodquecksilberti- trirmethode nach Sachsse. | 0,5568 | 106,50 |
| " " | " | Wägung d. Kupfers nach Soxhlet- Allihn. | 0,5514 | 105,47 |
| 0,5495 " | 110° C. | Sachsse. | 0,5868 | 106,79 |
| " " | " | Soxhlet-Allihn. | 0,5818 | 105,88 |

Von ganz demselben Präparat haben wir 0,4910 grm (bei 100° C. getrocknet) mit 50 cem Wasser und 5 cem Salzsäure vom spec. Gew. 1,125 drei Stunden lang am Rückflusskühler im kochenden Wasserbade erhitzt. Die nach dem Neutralisiren mit Kalilauge auf 100 cem gebrachte Flüssigkeit ergab

a. bei der optischen Untersuchung einen Traubenzuckergehalt von 0,5 proc.

b. bei der Fehling'schen Titrirung einen Traubenzuckergehalt von 0,5069 grm (d. i. 103,24 % Traubenzucker vom Gewichte des Glycogens).

Unser Resultat stimmt demnach gut zu denen Sachsse's. Die geringe Differenz ist durch die verschiedene Methode der Zuckerbestimmung hinreichend begründet.

Wie man sieht, gelingt es, durch Kochen mit verdünnten Mineralsäuren aus Glycogen annähernd die erwartete Menge Traubenzucker zu erhalten. Hervorzuheben ist jedoch, dass bei ein und demselben Präparat trotz gleicher Methodik schwankende Resultate erzielt wurden. Es wird daher vorläufig nicht rathlich sein, die indirecte Bestimmung des Glycogens der Brücke'schen Methode

ohne Weiteres zu substituiren, zumal da, von andern Bedenken abgesehen, der Glycogengehalt der Leber innerhalb weiter Grenzen schwankt, das Verhältniss von Glycogen, Wasser und Säure aber für die Inversion sicher von Bedeutung ist. Genaue vergleichende Bestimmungen, deren Ausführung wir uns vorbehalten, können hierüber allein entscheiden.

Ueber den Einfluss angestrenzter Körperbewegung auf den Glycogengehalt der Leber.

Von

E. Külz.

Zur Beurtheilung der allgemein¹⁾ verbreiteten Angabe, dass Bernard das Glycogen als Bestandtheil nur des embryonalen Muskels aufgefunden habe, lasse ich seine eigenen Worte folgen: „Chez les animaux hibernants ou engourdis dans la saison froide, on trouve une très grande quantité de matière glycogène accumulée dans le foie et contenue dans les cellules hépatiques. En outre on trouve de la matière glycogène non organisée, mais infiltrée dans les tissus musculaire et pulmonaire. Aussitôt que l'animal se réveille, qu'il se meut et respire plus activement, la matière glycogène est consommée et disparaît de ces tissus pour continuer à se former dans le foie. Chez les mammifères et oiseaux bien nourris, quand le tissu musculaire est au repos soit spontanément, soit artificiellement en coupant un nerf d'un membre, on voit également, la matière glycogène s'accumuler quelquefois dans les muscles inactifs pour disparaître plus tard par la fonction.“

Aus dieser Stelle geht mit Sicherheit hervor, dass Bernard bereits 1859 das Glycogen nicht nur als Muskelbestandtheil des erwachsenen Thieres kannte, sondern sich auch unter Andeutung

1) Luchsinger, Experimentelle u. kritische Beiträge zur Physiologie u. Pathologie des Glycogens. Dissert. Zürich 1875. S. 20 u. 21 macht eine rühmliche Ausnahme.