

Über den Einfluss der Gegenwart inactiver Substanzen auf die polaristrobometrische Bestimmung des Traubenzuckers

von

Prof. Richard Přibram.

Aus dem chemischen Laboratorium der Universität Czernowitz.

(Vorgelegt in der Sitzung am 19. April 1888.)

Bekanntlich wird die spezifische Drehung fast aller activen Substanzen durch verschiedene Lösungsmittel in ungleicher Weise verändert. Solche Änderung tritt auch bei Lösungen auf, welche nur eine Flüssigkeit, aber daneben noch eine gelöste inactive Substanz oder deren mehrere enthalten. Gernez¹ hat kürzlich, anknüpfend an Versuche von Biot² und Pasteur³ für die Weinsäure nachgewiesen, dass deren optische Drehung durch die Gegenwart von Molybdän- und Wolframsäure und deren Salze erhöht wird und hervorgehoben, dass auch Formamid, Acetamid, Harnstoff, ferner von Säuren Arsenige- und Arsensäure, sowie Antimonsäure und die Salze dieser Säuren in ähnlicher Weise wirken. W. Hartmann⁴ wies für die Camphersäure nach, dass das Drehungsvermögen derselben durch den Eintritt von Metallen an Stelle des Wasserstoffs erniedrigt werde, während schon früher festgestellt worden ist, dass Weinsäure, Äpfelsäure, Asparaginsäure u. a. in

¹ Recherches sur l'application du pouvoir rotatoire à l'étude de certains composés qui se produisent dans les solutions d'acide tartrique. *Compt. rend.* **104**, 783.

² *Mémoires de l'Académie des sciences.* **16**, 259 (1837).

³ *Annales de Chimie et de Physique* **59**, 206.

⁴ *Berichte der d. chem. Gesellschaft* **21**, 221 ff.

ihren Salzen ein grösseres Rotationsvermögen besitzen als im freien Zustande.

Neuerlich hat Landolt¹ auf diese Verhältnisse aufmerksam gemacht, und den Gedanken angeregt, die Änderung des Rotationsvermögens activer Substanzen durch inactive, als Grundlage für die Analyse nicht activer Substanzen mit Hilfe des Polaristrobometers zu benützen. Er führt als Beispiel die Bestimmung der Borsäure in wässriger Lösung an, welche sich mit Hilfe von Weinsäure ausführen lässt, deren Drehungsvermögen bei steigendem Zusatz der ersteren Säure in erheblichem Grade zunimmt.

Es ist klar, dass sich dieser Einfluss inactiver Substanzen in jenen Fällen, wo es sich um die quantitative Bestimmung mittelst des Polaristrobometers bei solchen Lösungen handelt, welche ausser der activen Substanz noch verschiedene inactive enthält, in störender Weise bemerkbar machen kann. Es war mir von Interesse, einen Einblick in diese Verhältnisse zu gewinnen und ich habe dabei zunächst die Bestimmung des Traubenzuckers ins Auge gefasst.

Die optische Ermittlung dieses Zuckers in Diabetesharn wird ja in der ärztlichen Praxis so häufig benützt und man geht dabei von der Voraussetzung aus, dass der diabetische Harn auf die Polarisationsebene ebenso einwirkt, wie eine reine Traubenzuckerlösung von gleichem Gehalt und nimmt an, dass die neben dem Zucker im Harn vorkommenden inactiven Substanzen die Drehung nicht beeinflussen. Exacte Versuche hierüber existiren meines Wissens nicht und es ist überhaupt erst in letzter Zeit möglich geworden, dieser Frage näher zu treten, da die durch Landolt² und Lippich³ verbesserten Halbschatten-Polaristrobometer eine weit schärfere Bestimmung der Drehungswinkel ermöglichen als die älteren Apparate. Es schien mir deshalb nicht überflüssig den Einfluss einiger Bestandtheile des Diabetesharnes auf die Zuckerbestimmung einer genaueren Prüfung zu unter-

¹ Sitzungsberichte der kön. preuss. Akademie der Wissensch. zu Berlin Bd. 48, S. 983.

² Zeitschr. für Instrumentenkunde II, 121.

³ Sitzungsber. der kais. Akademie der Wissensch. Wien 91, 1059 — Zeitschr. f. Instrumentenkunde II, 167.

ziehen. Bei dieser Untersuchung habe ich in erster Linie das Verhalten des Acetons berücksichtigen zu sollen geglaubt, da dasselbe bei schwereren Fällen von Diabetes in nicht unbeträchtlicher Menge in Harn auftritt und weil Tollens für Rohrzucker festgestellt hat, dass Aceton die Rotation desselben erhöht¹. In der That hat die Gegenwart von Aceton auch eine nicht unerhebliche Zunahme der Drehung des Traubenzuckers zur Folge.

Die Versuche, über welche ich in Folgendem berichten will, haben jedoch noch nach anderer Richtung zu einem interessanten Ergebnis geführt, indem festgestellt wurde, dass sich der Einfluss, welchen das Aceton auf die Drehung ausübt, durch eine einfache Formel ausdrücken lässt, welche es ermöglicht, mit Hilfe von Traubenzucker den Acetongehalt in einer wässrigen Lösung zu bestimmen.

Zur Untersuchung diente ein von dem Universitätsmechaniker R. Rothe in Prag angefertigter mit Lippich'schem Polarisator versehener Halbschattenapparat, dessen Theilkreis 0.01° und dessen Nonius 0.001° ablesen liess. Zu allen Versuchen wurde ein und dieselbe Flüssigkeitsröhre verwendet, welche, wie eine Controlmessung ergab, genau 2 dm Länge hatte. Durch Anwendung eines Wasserbadmantels war es leicht, die Temperatur constant bei 20°C . zu erhalten. Als Lichtquelle benützte ich die von Landolt² angegebene Natriumlampe. Jeder Beobachtung im gefüllten Rohre wurde die zugehörige Nullpunktsbestimmung angefügt, die Ablesung stets in zwei entgegengesetzten Quadranten vorgenommen und Druck auf die Verschlussplatten des Flüssigkeitsrohres selbstverständlich sorgfältig vermieden.

Die Darstellung des dazu erforderlichen Traubenzuckers erfolgte theils nach dem Soxhlet'schen Verfahren, theils wurde ein von Merk in Darmstadt bezogener sogenannter chemisch reiner Traubenzucker benützt, welchen ich noch durch wiederholtes Umkrystallisiren und scharfes Pressen reinigte.

¹ Bei Anwendung 10% iger Lösungen von Rohrzucker in Gemengen von etwa 3 Vol. Aceton und 1 Vol. Wasser fand Tollens (Ber. d. d. chem. Gesellsch. **13**, 2297), dass, wenn

für Wasser die Drehung $[\alpha D] = 66.667$ ist, dieselbe
für Aceton + Wasser 67.396 beträgt.

² Zeitschr. für Instrumentenkunde IV, 390.

Die Anfertigung der Lösungen geschah in folgender Weise:

Es wurde zunächst durch Auswägen eine concentrirtere Lösung von Traubenzucker in Wasser hergestellt; dieselbe war farblos. Sie wurde zur Bestimmung der specifischen Drehung des Zuckers verwendet. Da der Traubenzucker bekanntlich Birotation zeigt, so musste die Lösung längere Zeit stehen gelassen und zwischendurch wiederholt untersucht werden. Erst nach circa 30 Stunden blieben die Ablesungen constant und die aus denselben berechnete specifische Drehung erwies sich übereinstimmend mit den Angaben von Tollens. Hiernach konnte der Traubenzucker als rein angesehen werden. Von dieser concentrirten Lösung wurde in einem sorgfältig calibrirten Gefässe immer dieselbe Menge mit verschiedenen Mengen Aceton (später auch mit anderen inactiven Substanzen, deren Einfluss auf die Drehung des Zuckers geprüft wurde s. u.) versetzt und dann immer zu dem gleichen Volum mit Wasser aufgefüllt¹. Es waren also immer dieselbe Zuckerquantität, dagegen wechselnde relative Mengen von Wasser und der anderen in Anwendung gezogenen inactiven Substanz vorhanden. Zum Vergleiche diente eine ausschliesslich mit Wasser auf dasselbe Volum gebrachte Zuckerlösung. Jedesmal wurde die Vorsicht gebraucht, die Lösungen, selbstverständlich unter Vermeidung jeder Verdunstung, so lange stehen zu lassen, bis die Drehung constant geworden war. Dies wurde durch wiederholte Untersuchung controlirt. Nur die zuletzt erhaltenen Ablenkungswinkel dienten zum Vergleiche.

In dieser Weise wurden mehrere Reihen von Versuchen unter Zugrundelegung verschiedener Zuckerquantitäten durchgeführt. Auf die ausführliche Wiedergabe des umfangreichen Zahlenmaterials glaube ich verzichten zu können und theile in nachfolgender Tabelle zunächst die Resultate einer Versuchsreihe mit, bei welcher die einzelnen Lösungen in 100 cm^3 — 15.68 g wasserfreier Glycose enthielten. Die angeführten Werthe für α_D^{20} sind die Mittel aus je 20 Beobachtungen. Die grösste Differenz der einzelnen Ablesungen betrug $\pm 0.02^\circ$. In der Regel waren

¹ Die Messung geschah stets bei 20° C .

jedoch die Differenzen geringer und häufig wurde auch vollständige Übereinstimmung erzielt. Die Differenz δ bezeichnet den Unterschied in der Drehung zwischen der reinen und der verschiedene Acetommengen enthaltenden Zuckerlösung.

100 cm ³ der einzelnen Lösungen enthielten 15.68 g = c wasserfreier Glycose			Procentgehalt an Aceton	α_D^{20} für $l = 2 \text{ dm}$	δ	$[\alpha]_D^{20} = \frac{100 \alpha}{l c}$
20 cm ³ Zuckerlösung +	20	cm ³ Wasser	0	16.587		52.89
20 "	+	1.6 cm ³ Aceton + 18.4 cm ³ Wasser	4	16.711	+ 0.124	53.29
20 "	+	3.2 "	8	16.810	+ 0.223	53.63
20 "	+	4.8 "	12	16.915	+ 0.323	53.94
20 "	+	6.4 "	16	17.007	+ 0.420	54.23
20 "	+	8 "	20	17.100	+ 0.513	54.53
20 "	+	9.6 "	24	17.187	+ 0.600	54.81
20 "	+	16 "	40	17.622	+ 1.035	56.19
20 "	+	20 "	50	17.884	+ 1.297	57.03

Wie man aus diesen Zahlen ersieht, nimmt die Drehung mit steigendem Gehalt der Lösung an Aceton zu. Bezeichnet α_D den direct abgelesenen Drehungswinkel der Flüssigkeit und x den Procentgehalt derselben an Aceton, so lässt sich die Beziehung durch folgende Formel ausdrücken:

$$\alpha_D = 16.587 + 0.026x.$$

Berechnet man mit Hilfe dieser Formel die Werthe für α_D , so ergeben sich für die beobachteten und die berechneten Drehungswinkel folgende Differenzen:

Procente an Aceton	α_D beobachtet	α_D berechnet	Differenz
0	16·587	16·587	0·000
4	16·711	16·691	+ 0·020
8	16·810	16·795	+ 0·015
12	16·915	16·899	+ 0·016
16	17·007	17·003	+ 0·004
20	17·100	17·107	— 0·007
24	17·187	17·211	— 0·024
40	17·622	17·627	— 0·005
50	17·884	17·887	— 0·003

Die Übereinstimmung ist in Anbetracht der früher angegebenen Empfindlichkeit des Instrumentes völlig zufriedenstellend. Die Formel gibt, wenn aus dem beobachteten Winkel auf die Procente geschlossen wird, die Procente mit ausreichender Genauigkeit, da der Fehler nicht ein Procent betragen kann.

Es liegt nahe die Frage aufzuwerfen, wie man sich diesen Einfluss des Acetons, der sich in einer Erhöhung der Rotation des Zuckers ausprägt, vorzustellen habe. Man könnte vielleicht zunächst an eine Verbindung der Glycose mit Aceton denken. Schiff¹ hat kürzlich solche Verbindungen dargestellt, aber zugleich nachgewiesen, dass sie sehr hygroskopisch sind und mit Wasser sofort in ihre Componenten zerfallen. Sie kommen also hier, wo es sich um wasserhaltige Lösungen handelt, nicht in Betracht. Berücksichtigt man aber die Eigenthümlichkeit des Traubenzuckers, in wässriger Lösung Birotation zu zeigen, so scheint in diesem speciellen Falle die Beantwortung der angeregten Frage sich ziemlich einfach zu gestalten. Wie Dubrunfaut, Erdmann und Béchamp nachgewiesen haben², hängt die Erscheinung der

¹ Annalen der Chemie **244**, 24.

² Vergl. Landolt, Das optische Drehungsvermögen organ. Substanzen. Braunschweig 1879, S. 58.

Birotation des Traubenzuckers damit zusammen, dass diese Zuckerart in zwei Modificationen auftreten kann, einer krystallinischen und einer amorphen, welche letztere durch Schmelzen entsteht. Nur die krystallinische Form zeigt anfänglich das hohe Drehungsvermögen, die amorphe gibt sogleich das niedrige und es muss daher die erste, wenn sie in Lösung sich befindet, allmählig in die zweite übergehen.

Die hohe Rotation wird vielleicht dadurch bewirkt, dass nach dem Lösen der Krystalle anfänglich noch Molecülgruppen von activem Bau (Krystallmolecüle) in der Flüssigkeit sich befinden, und so zu der Wirkung der Einzelmolecüle auch noch die Krystalldrehung hinzukommt. Die Krystallmolecüle zerfallen aber allmählig und es bleibt schliesslich die constante moleculare Rotation übrig.

Während nun in wässrigen Zuckerlösungen eine allmählig bis zu einer gewissen Grenze fortschreitende Verminderung der Rotation bemerkbar ist, zeigen acetonhaltige Lösungen das entgegengesetzte Verhalten, nämlich eine langsame bis zu einem Maximum fortschreitende Vermehrung, wie aus folgender Zusammenstellung ersichtlich:

	Anfangs- beobachtung	Nach 24 Stunden	Nach 48 Stunden
	α_D^{20}	α_D^{20}	α_D^{20}
Zuckerlösung mit 50% Aceton	16·587	17·245	17·884
„ „ 40 „ „	17·010	17·575	17·587

Ist die oben erwähnte Erklärung der Ursache der Birotation richtig, dann könnte man annehmen, dass durch Zufügung von Aceton wieder ein Zusammentreten der Einzelmolecüle des Zuckers zu grösseren Gruppen erfolgt und zwar um so mehr, je mehr Aceton in der Lösung vorhanden ist. Die Bildung solcher grösserer Molecülgruppen würde allmählig erfolgen, bei einer 50% Aceton haltenden Lösung wäre die Grenze erst nach 48 Stunden erreicht. In Übereinstimmung mit dieser Auffassung steht die durch Versuche ermittelte Thatsache, dass wenn der Gehalt der Lösung an Aceton 50% übersteigt, eine Trübung der Flüssigkeit eintritt, die anfänglich beim Schütteln wieder verschwindet, bei weiterer Zugabe von Aceton sich jedoch erhält

und zunimmt. In reinem Aceton ist der Traubenzucker nicht löslich.

Es war mir von Interesse, das Verhalten der Lösungen von gleichem Zuckergehalt und wechselndem Aceton- und Wassergehalt beim Durchfliessen durch capillare Röhren kennen zu lernen. Zu den Versuchen dienten dieselben Lösungen, deren Drehungsvermögen bestimmt worden war und es wurde derselbe Apparat benützt, den ich schon früher bei meinen Untersuchungen über die spezifische Zähigkeit in Anwendung gezogen habe.¹

Da das Aceton eine wesentlich geringere Zähigkeit besitzt als das Wasser², so hätte möglicherweise steigender Acetongehalt, bei gleichzeitig verminderter relativer Wassermenge, die Zähigkeit der Flüssigkeit herabdrücken können. Die Versuche ergaben jedoch mit Steigerung des Acetongehaltes der Lösung eine Zunahme der Zähigkeit. Dies kann als Stütze der oben ausgesprochenen Ansicht gelten, denn es ist leicht verständlich, dass durch Zusammentreten der Einzelmoleküle zu grösseren Gruppen die innere Reibung erhöht werden kann. Ich will jedoch nicht unterlassen hervorzuheben, dass, soweit meine Versuche bis jetzt reichen, die angegebene Erklärung nur für Traubenzucker zulässig erscheint.

Versuche, die in meinem Laboratorium mit Weinsäure vorgenommen wurden und über die ich bald in der Lage sein werde, ausführlicher zu berichten, haben ergeben, dass die Drehung dieser Säure durch Aceton in erheblicher Weise verringert wird.³ Für diese Erscheinung kann wohl die oben angegebene Erklärung nicht als gültig angesehen werden. Bekanntlich zeigt Weinsäure auch keine Birotation.

Die im Vorstehenden besprochene Erhöhung der Drehung des Traubenzuckers durch Aceton wird bei der polaristrobometrischen Bestimmung des Zuckers im Diabetes-Harn dann zu berücksichtigen sein, wenn es sich um Harne handelt, welche

¹ Über die spezifische Zähigkeit der Flüssigkeiten und ihre Beziehung zur chemischen Constitution. Sitzungsber. d. k. Akademie der Wissensch. **80**, II, S. 17 (1879).

² Die spezifische Zähigkeit derselben bei 20° C. beträgt 22. Vergl. Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wissensch. **84**, II (1881).

³ Vergl. Landolt, Berichte d. d. chem. Gesellsch. **13**, 2332.

mehr als 5% Zucker enthalten und bei welchen der Acetongehalt ein Procent übersteigt. Unterhalb dieser Grenze konnte mit dem früher beschriebenen Halbschattenapparat keine angebbare Differenz in der Ablenkung durch reine und acetonhaltige Zuckerlösung constatirt werden.

Da in Fällen von Diabetes die Harnstoffausscheidung in enormer Weise gesteigert zu sein pflegt, so habe ich auch einige Versuche angestellt, um den Einfluss des Harnstoffs auf die optische Bestimmung des Zuckers kennen zu lernen.

Die Herstellung der Lösungen erfolgte in analoger Weise wie früher angegeben. In immer derselben Menge Zuckerlösung wurden verschiedene Mengen Harnstoff gelöst und dann mit Wasser zu dem gleichen Volum aufgefüllt. 100 cm^3 der einzelnen Lösungen enthielten 15.797 g wasserfreier Glycose und wechselnde Harnstoff- und Wassermengen. Die Werthe für α_D^{20} in folgender Tabelle sind die Mittel aus je 20 Beobachtungen:

	Procentgehalt auf Harnstoff	α_D^{20} für $l = 2 \text{ dm}$	Differenz	$\left[\alpha \right]_D^{20} = \frac{100 \alpha}{l c}$
100 cm^3 der einzelnen Lösungen enthielten 15.797 $g = c$ wasser- freien Traubenzuckers	0	16.714		52.91
	4	16.693	— 0.021	52.84
	8	16.621	— 0.072	52.61
	12	16.500	— 0.121	52.23
	16	16.411	— 0.089	51.95

Wie diese Zusammenstellung zeigt, bewirkt Harnstoff eine Verminderung der Drehung des Traubenzuckers. Die Differenzen sind jedoch hier zu klein, als dass sich aus den erhaltenen Zahlen ein bestimmtes Gesetz ableiten liesse. Der für 4% Harnstoff erhaltene Ausschlag steht noch an der Grenze der möglichen Beobachtungsfehler des Instrumentes. Immerhin wäre dieser Einfluss des Harnstoffes namentlich bei zuckerarmen Harnen

zu beachten, da ein geringer Zuckergehalt verdeckt werden und der Beobachtung entgehen kann.

Noch möchte ich erwähnen, dass auch Ammoniumsalze die Drehung des Zuckers zu vermindern im Stande sind. Ich habe in dieser Beziehung das Ammoniumcarbonat näher untersucht. Folgendes sind die erhaltenen Werte.

	Procentgehalt an Ammonium- carbonat	α_D^{20} für $l = 2 \text{ dm}$	δ	$[\alpha]_D^{20} =$ $\frac{100 \alpha}{l e}$
100 cm ³ der einzelnen Lösungen enthielten 16.46 g = c wasserfreie Glycose	0	17.392		52.831
	2	17.249	— 0.143	52.397
	4	17.194	— 0.198	52.224
	6	16.908	— 0.484	51.361
	8	16.825	— 0.567	51.109
	10	16.741	— 0.651	50.853

Auch Phosphate können die Rotation des Traubenzuckers im Sinne einer minimalen Verringerung beeinflussen. Indess macht sich diese Wirkung erst bei einem Gehalt von 8—10% bemerkbar.

Worm-Müller¹, welcher eine grosse Reihe vergleichender Bestimmungen des Traubenzuckers im Harn durch Titrirung und Polarisation durchgeführt hat, fand bei letzterem Verfahren durchschnittlich 0.35% weniger Zucker als bei Titrirung. Er hält die Titrirung für die richtigere Bestimmungsmethode und glaubt, dass die im Harn der Diabetiker vorkommenden linksdrehenden Stoffe die Differenzen, welche in einigen Fällen auf 0.7 bis 2.4% gesteigert wurden, bedingen. Es ist jedoch nicht nothwendig, in allen Fällen an das Vorhandensein linksdrehender Substanzen zu denken, da, wie aus dem Vorhergehenden ersichtlich, auch manche inactive Bestandtheile des Harnes die Zuckerbestimmung sowohl im Sinne einer Erhöhung wie in dem einer Verminderung des

¹ Pflügers Archiv f. Physiologie 35, 76—108.

gefundenen Zuckergehaltes gegenüber dem wirklichen, zu beeinflussen vermögen und es kann, wie bereits erwähnt, auch der Fall vorkommen, dass ein geringer Zuckergehalt in Folge der Einwirkung der inactiven Stoffe bei der optischen Bestimmung ganz übersehen wird. Es wird Aufgabe weiterer Untersuchungen sein, festzustellen, wie sich noch andere als die bis jetzt geprüften inactiven Harnbestandtheile dem Traubenzucker gegenüber verhalten.

Will man die durch Aceton herbeigeführte Erhöhung der Rotation des Traubenzuckers, wie früher dargelegt, als Verminderung der Löslichkeit gelten lassen und dieselbe auf eine Ausscheidung von Molecülaggregaten zurückführen, dann könnte man annehmen, dass Harnstoff, Ammoniumcarbonat und andere die Drehung verringernde Stoffe die Löslichkeit des Traubenzuckers erhöhen und den Zerfall von Molecülgruppen in Einzelmolecüle in noch höherem Grade herbeiführen, als dies durch Wasser geschieht.
