

(Physiologisches Laboratorium in Bonn.)

**Eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung
des Zuckers, als Fortsetzung meiner Untersuchungen
über die Quelle der Muskelkraft.**

Vorläufige Mittheilung

von

Eduard Pflüger.

Meinen vorläufigen Mittheilungen über die Quelle der Muskelkraft habe ich die ausführliche Darstellung nicht sobald folgen lassen können, weil die Ermittlung der elementaren Zusammensetzung der Muskelsubstanz ganz unerwartet grosse Schwierigkeiten darbot.

Diese Kenntniss ist für fast alle Betrachtungen über die Beziehung der chemischen Veränderung des Muskels zu der Arbeit desselben eine nothwendige Voraussetzung. Von erhöhter Wichtigkeit wurde aber diese Kenntniss durch eine auf meine Veranlassung und unter meiner Leitung von Dr. G. Argutinsky in meinem Laboratorium ausgeführte Untersuchung über die Veränderung der elementaren Zusammensetzung des Muskels durch die Arbeit. Argutinsky fand, dass die fett- und glykogenfrei gedachte Muskelsubstanz des Hundes, wenn sie durch Arbeit stark ermüdet wurde, stickstoffreicher und sauerstoffärmer wird. Diese Reduction des Muskels, d. h. diese intramoleculare Oxydation ist gross genug, um die Paradoxie zu erklären, dass in der ermüdeten Muskelsubstanz auch der procentische Kohlenstoffgehalt ein wenig zugenommen hat.

So wichtig das Ergebniss der Analysen Argutinsky's war, so hielt ich ihn doch von der Veröffentlichung ab, weil seine Entdeckung solange unsicher bleibt, bis man die Fette und Kohlehydrate des Fleisches hinreichend genau bestimmen kann. Ich

zweifelte aber schon damals an der Zuverlässigkeit der gebräuchlichen chemischen Methoden.

Wie bekannt sind mehrere Jahre in Anspruch nehmende Untersuchungen von mir selbst und meinen Schülern nothwendig gewesen, bis ein Weg gefunden war, die in dem Fleisch enthaltenen Fettmengen hinreichend genau zu bestimmen.

Als ich mich dann zu den Kohlehydraten des Fleisches und zunächst zu dem Glykogen wandte, beauftragte ich den in meinem Laboratorium arbeitenden Herrn Dr. Weidenbaum die als gut geltende Brücke-Külz'sche Methode kritisch in der Weise zu untersuchen, dass er eine gewogene Glykogenmenge zu glykogenfreiem Fleischbrei füge und dann das zugesetzte Glykogen wieder nachzuweisen suche. Dr. Weidenbaum hatte aber ein ganz ungeheures bis zu 20 % und höher steigendes Deficit. Ich habe bei der Nachprüfung dieselben schlechten Ergebnisse gehabt.

Indem ich eingehender die Glykogenanalyse untersuchte, fand ich dann, dass alles auf das Sorgfältigste nach Brücke-Külz dargestellte Glykogen stickstoffhaltig ist und dass die Verunreinigung nicht bloss in der Beimengung von Eiweiss, sondern auch von Körpern ihren Grund hat, welche etwa 5 bis 6 % Stickstoff enthalten. Wenn also der Stickstoffgehalt des Glykogens durch wiederholte Reinigung nach Brücke-Külz unter 0,1 % gesunken ist, kann die procentische Verunreinigung des Glykogens doch eine sehr grosse sein.

Diese grobe Unsicherheit der Glykogen-Analyse veranlasste mich nun zunächst zu untersuchen, welche Zuckermengen aus einer gegebenen Menge Glykogen erhalten werden können, um hierdurch einen sicheren Anhalt über das, was in der unreinen Substanz Kohlehydrat ist, zu gewinnen.

Wer sich eingehend mit den verschiedenen Methoden der Zuckermanalyse beschäftigt, wird bald finden, dass es nur eine sichere Methode gibt: nämlich die Titration mit Fehling'scher Lösung unter Beachtung der Vorschriften von Soxhlet. Ich habe bei genauer kritischer Prüfung gefunden, dass der von Soxhlet angegebene Titer richtig ist. — Aber diese Titration ist nur anwendbar, wenn grosse Zuckermengen zur Verfügung stehen. Zur Bestimmung der im Blut und in den Organen enthaltenen kleinen Mengen von Zucker oder von Kohlehydraten ist sie, wenn es auf Genauigkeit ankommt, nicht mehr anwendbar.

Hier müsste die Methode von Allihn zunächst in Betracht kommen. Das Wesentliche derselben besteht darin, dass die Zuckerlösung mit überschüssiger Kupferlösung erhitzt und das ausgeschiedene Kupferoxydul nach Filtration durch Asbest mit Wasserstoff zu Kupfer reducirt wird. Diese Methode, welche schon von verschiedenen Chemikern wegen der mit den Asbestfiltrerröhrchen gegebenen Unsicherheit bemängelt wurde, leidet an mehreren Uebelständen, die ich erst beseitigen musste und die Allihn nicht beseitigen konnte, weil die chemischen Thatsachen unbekannt waren, die sie verschulden: Denn

Vorerst ist der Asbest nicht so unschuldig gegen die Fehling-Allihn'sche Lösung wie allgemein angenommen wird. Die Papierfaser hält Kupfer hartnäckig zurück und lässt sich durch beliebig langes Waschen mit Wasser nicht ganz davon befreien. Asbest soll dass nicht thun. Das ist aber ganz und gar unrichtig. Wenn man die Fehling'sche Lösung durch ein Asbestfilter saugt, so lässt sich durch Nachwaschen mit wenig Wasser bald ein Filtrat erhalten, das im Reagenzglas mit Schwefelwasserstoff oder Ferrocyankalium keine Spur von Schwärzung oder Bräunung giebt. — Wäscht man aber dann den Asbest mit Wasser, dem etwas Salpetersäure zugesetzt ist, so schwärzt sich das Filtrat mit Schwefelwasserstoff. — Ich habe mir keinen Asbest verschaffen können, der das Kupfer nicht chemisch bände. Ich filtrirte 145 ccm Fehling-Allihn'sche Mischung durch 25 gr trocknen, schneeweissen, wohl mit rauchender Salpetersäure, Kalilauge und Wasser gereinigten Asbestes und erhielt ein Filtrat, das sofort durch seine Farbe sich von der unfiltrirten Lösung unterschied. Das Blaue war blässer. Nachdem ich mit Wasser den Asbest solange ausgewaschen, bis das Filtrat sogar im Becherglas mit Schwefelwasserstoff keine Spur von Bräunung mehr gab, zog ich dann mit Salpetersäure noch 15,5 mgr Kupfer aus dem Asbeste aus.

Es versteht sich von selbst, dass ich die Fehling-Allihn'sche Lösung kalt durch den Asbest filtrirte und nicht vorher erhitzte. Denn jede Fehling-Allihn'sche Mischung (120 ccm), die mit 25 ccm zuckerfreien Wassers versetzt wird, scheidet beim Erhitzen 3 bis 4 Milligramm Kupferoxydul ab. — Hier liegt keine Verunreinigung als Ursache vor. Denn ich habe den „chemisch reinen“ Kupfervitriol des Handels (Kahlbaum und Marquart-Kölliker) erst aus Salpetersäure, dann noch 3 mal, auch 4 mal aus Wasser

umkrystallisirt; das Seignettesalz ist auch 3 bis 4 mal vor dem Gebrauch umkrystallisirt.

Trotz der Absorption des Kupfers durch den Asbest ist die lösende Wirkung der Fehling'schen Lösung auf denselben wegen des Kali's so stark, dass nach Filtration von Fehling'scher Lösung durch den Asbest und nach Auswaschen derselben mit Wasser, Alkohol und Aether und Trocknung das Gewicht des Asbestes meist abgenommen hat, wie ja allgemein bekannt ist.

Es hat mich sehr viel Zeit gekostet, bis ich ermittelt habe, wie man ein Asbestfiltrerröhrchen für den Allihn'schen Versuch herrichten muss, damit der durch dasselbe bedingte Fehler fast verschwinde. In der ausführlichen Arbeit will ich dies genau angeben.

Noch wichtiger aber als dies ist für eine richtige Analyse die Beachtung der von mir gefundenen Eigenschaft des Zuckers, dass die Menge des Kupferoxyduls, die er mit Fehling'scher Lösung im Allihn'schen Versuch, d. h. bei Kupferüberschuss ausscheidet, in ausserordentlicher Weise abhängt von dem Grade und der Dauer der Erhitzung.

50 Milligramm Traubenzucker lieferten in Fehling-Allihn'scher Mischung bei der Dauer des Kochens

von 2 Min. und sofortiger Filtration . . .	102,25 mgr Kupfer
„ 2 „ „ 60 Min. Warten vor Filtration	105,70 „ „
„ 5 „ „ 2 Stunden „ „ „	108,80 „ „
„ 10 „ „ 1 Stunde „ „ „	110,50 „ „
„ 20 „ „ 1 Stunde „ „ „	119,30 „ „
„ 435 „ „ 1/4 Stunde „ „ „	169,80 „ „
„ 24 Stunden u. 2 Stunden „ „ „	302,30 „ „

Die Flüssigkeit wurde in einer mit Uhrglas bedeckt gehaltenen Flasche im siedenden Wasserbad erhitzt und dafür gesorgt, dass keine Concentration der Lösung mit der Zeit eintrat.

Unter Berücksichtigung der mitgetheilten Thatsachen habe ich nun eine neue Methode ausgearbeitet, welche dadurch ermöglicht wurde, dass ich die Bedingungen fand, unter denen bei dem Allihn'schen Versuch das Kupferoxydul sich wasserfrei abscheidet, also direct gewogen werden kann und dann genau dieselben Werthe gibt, die man erst durch Reduction des Kupferoxyduls mit Wasserstoff nach Allihn erhält.

Meine Methode ist folgende:

1) In ein Becherglas von etwa 300 ccm Inhalt misst man 30 ccm alkalische nach Allihn's Vorschrift bereitete Seignettesalzlösung; hierzu

2) 30 ccm Lösung von Kupfervitriol (34,6 gr Kupfervitriol mit 5 Moleculen Krystallwasser aufgelöst zu 500 ccm);

3) 60 ccm Wasser;

4) 25 ccm zuckerhaltige Flüssigkeit.

Alles wird kalt wohl gemischt, dadurch, dass man die Flüssigkeit im Becherglase in Rotation versetzt.

Nachdem dieses mit einem Uhrglas (Convexität nach unten) bedeckt und in einen horizontalen von einem Stativ getragenen Ring gehängt ist, taucht man es in einem gegebenen Moment in ein stark siedendes Wasserbad, sodass es etwas über die untere Hälfte eintaucht und hebt es nach genau 30 Minuten wieder heraus. Nachdem man sofort 145 ccm kaltes Wasser zu der 100 ° C. heissen Lösung gegossen, filtrirt man ohne Verzug durch ein gewogenes richtig hergestelltes Asbestfiltrerröhrchen die blaue Flüssigkeit, wäscht dann mit 100 ccm Wasser die Kupferlösung weg, giesst nachher 2 mal 96 % igen Alkohol auf, dann 2 mal wasserfreien Aether, trocknet bei 120 ° C., wägt nach dem Erkalten und berechnet das Kupfer.

Wenn man dann nach Allihn in demselben Röhrchen das Kupferoxydul mit Wasserstoff zu Kupfer reducirt, erhält man denselben Werth für das Kupfer, den man vorher aus dem Kupferoxydul schon berechnet hatte.

Eine grosse Annehmlichkeit meiner Kupferoxydulmethode liegt darin, dass das Kupferoxydul nicht wie das durch Reduction mit Wasserstoff gewonnene metallische Kupfer schon unter 100 ° C. sich oxydirt, sondern erst gegen 200 ° C., so dass es dreist bei 120° getrocknet werden kann. Ich habe keine Spur einer Gewichtsänderung beobachtet, wenn ich dieses Kupferoxydul 12 Stunden bei 120 ° C. trocknete. Zur Trocknung der Asbeströhren ist eine Temperatur über 100 ° C. und die Leitung trockner Luft durch den Asbest durchaus nothwendig.

Wie Allihn habe ich ebenfalls eine Curve construirt, welche die Abhängigkeit der Menge des abgeschiedenen Kupferoxyduls von der Menge des angewandten Zuckers darstellt. Auch meine Curve ist concav gegen die Abscisse, aber von 0,05 % bis 0,5 % Zucker sehr nahe geradlinig; d. h. die Zuwächse des ausgeschie-

denen Kupferoxydul sind denen der Zuckermenge nahezu proportional. Meine Werthe liegen aber beträchtlich höher als die *Allihn's*.

Ich habe die Werthe meiner Curve noch durch 2 andere Methoden controlirt, nämlich

1) durch die von verschiedener Seite verpönte Methode von *Prager*, (*Grünhut*, *Nihoul*, *Killing*), bei welcher das Kupferoxydul durch Glühen in Oxyd übergeführt wird. Einige hundert Analysen, die ich selbst mit dieser Methode ausgeführt habe, geben mir das Recht zu behaupten, dass diese Methode, wenn sie nur richtig ausgeführt wird, fast ebenso gute Ergebnisse wie die von *Allihn* liefert. Der Tadel trifft also mehr die *Tadler* als die Methode.

2) Ich habe endlich noch das Kupferoxydul nach *Volhard* durch Ueberführung in das Rhodanür bestimmt und kann, da ich auch diese mehrfach bemängelte Methode kritisch prüfte, sie sehr empfehlen, wenn man eine Correctur von 0,4 % des beobachteten Kupfers anbringt, um welche Menge der erhaltene Werth zu klein gefunden wird.

Ich habe also die Curve der Kupferausscheidung nach 4 verschiedenen Methoden entworfen und identische Werthe erhalten.

Die sehr grosse, in kurzer Zeit nicht zu bewältigende Arbeit, welche bis zur Sicherung der elementaren Zusammensetzung der Muskelsubstanz noch zu thun übrig bleibt, hat mir die Pflicht auferlegt, die Ergebnisse der Arbeit *Argutinsky's* nicht länger zurückzuhalten. *Argutinsky* hat, wie ich bezeugen kann, die Menge der Fette und des Glykogens in der ausgeruhten und ermüdeten Muskelsubstanz mit denselben Methoden und mit gleicher höchster Gewissenhaftigkeit bestimmt.

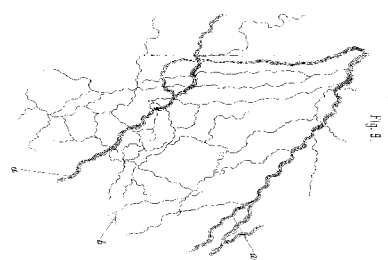
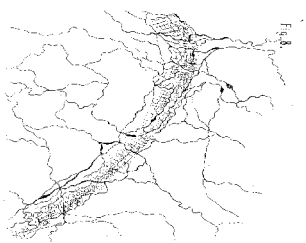
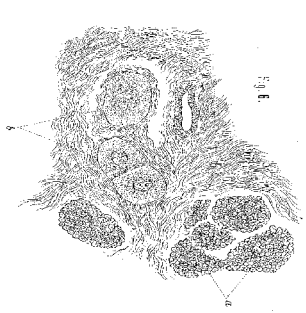
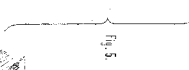
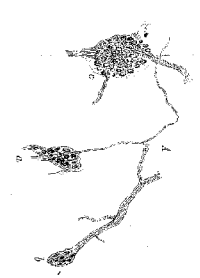
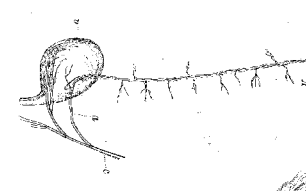
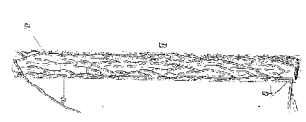
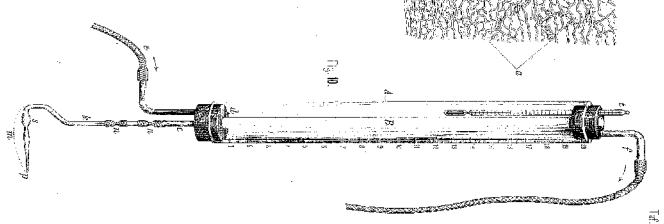
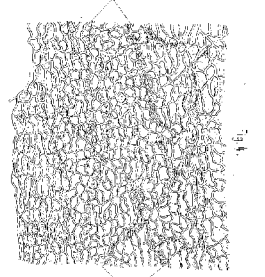
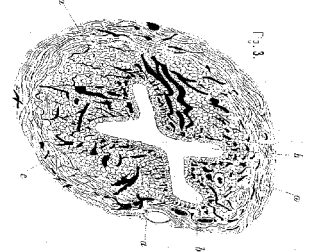
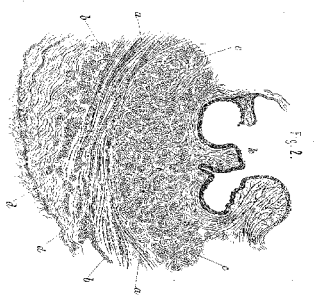
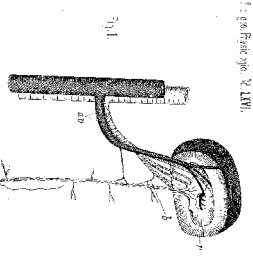


Fig. 3. (Versuch III.)

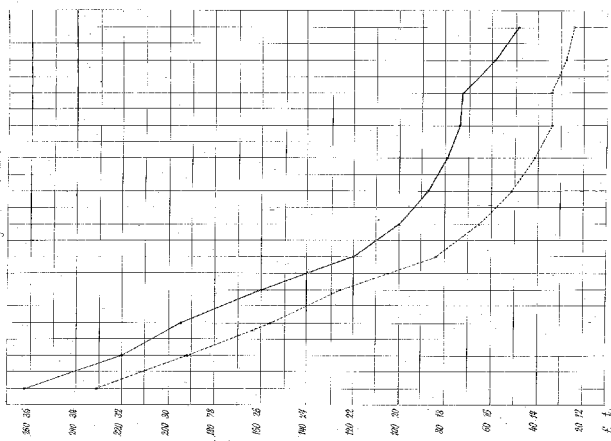


Fig. 4. (Versuch III.)

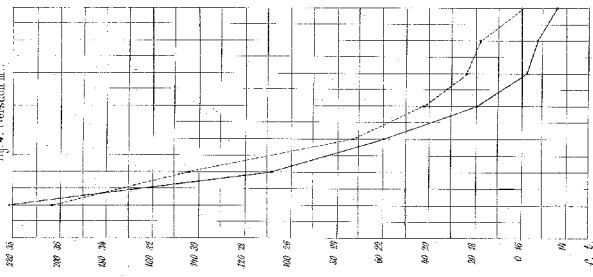


Fig. 5. (Versuch III.)

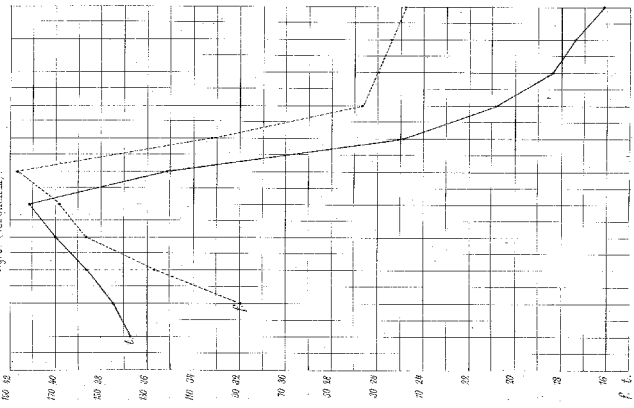


Fig. 7. (Versuch IV.)

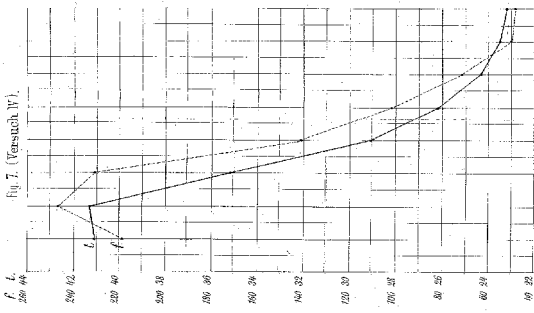


Fig. 8. (Versuch VII.)

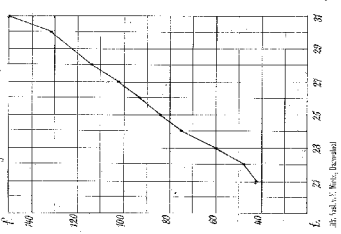


Fig. 11. (Versuch XIII.)

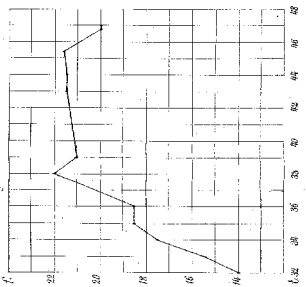


Fig. 25. (Versuch XIII.)

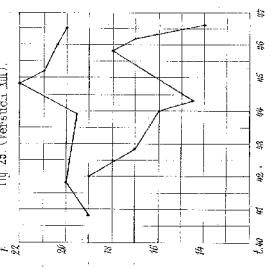


Fig. 28. (Versuch XI.)

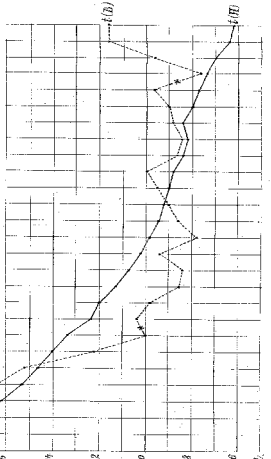


Fig. 9. (Versuch VI.)

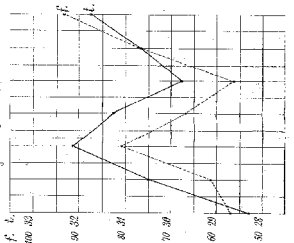


Fig. 10. (Versuch III)

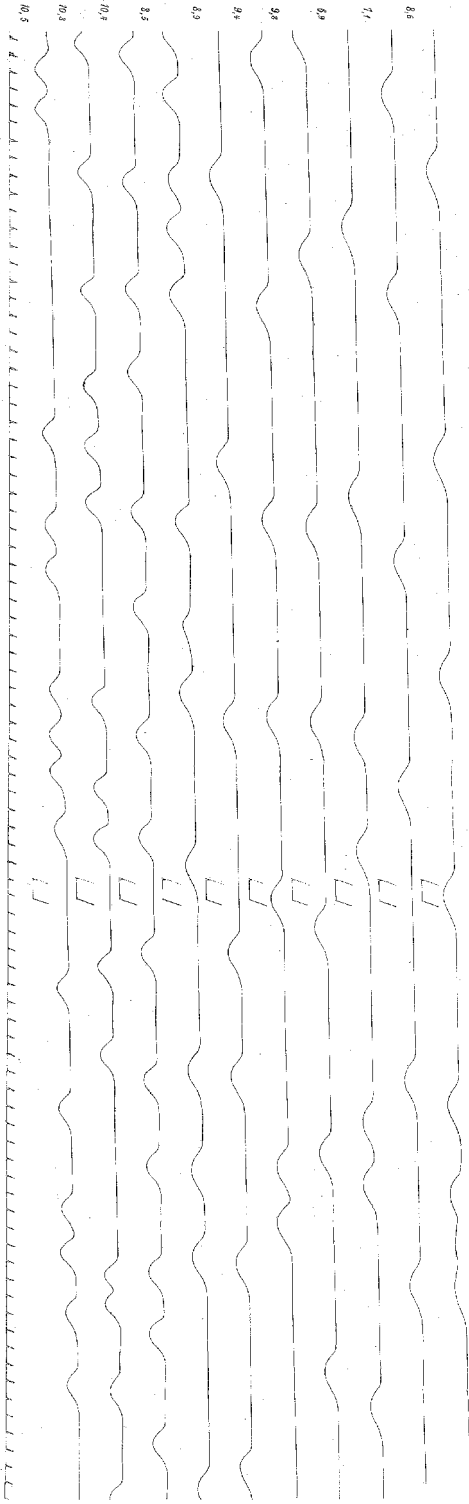
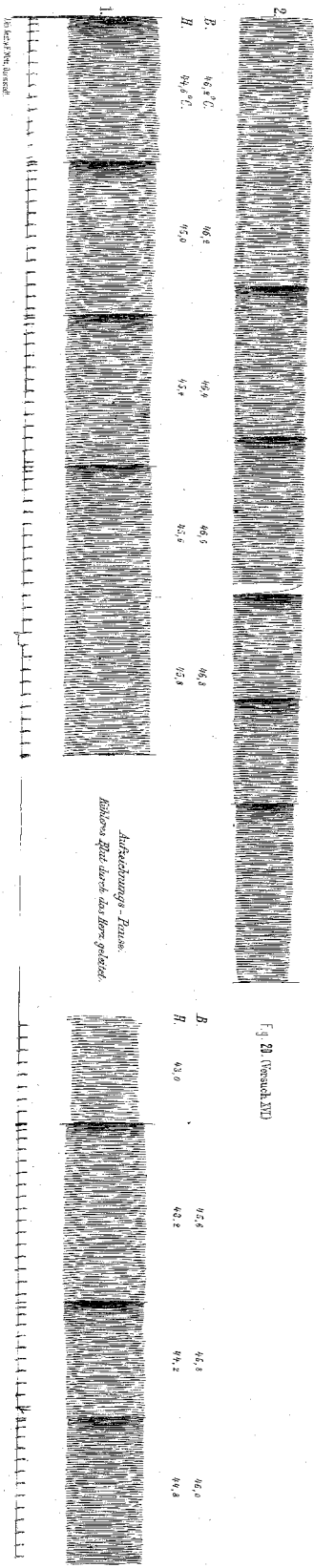


Fig. 20. (Versuch XIV)



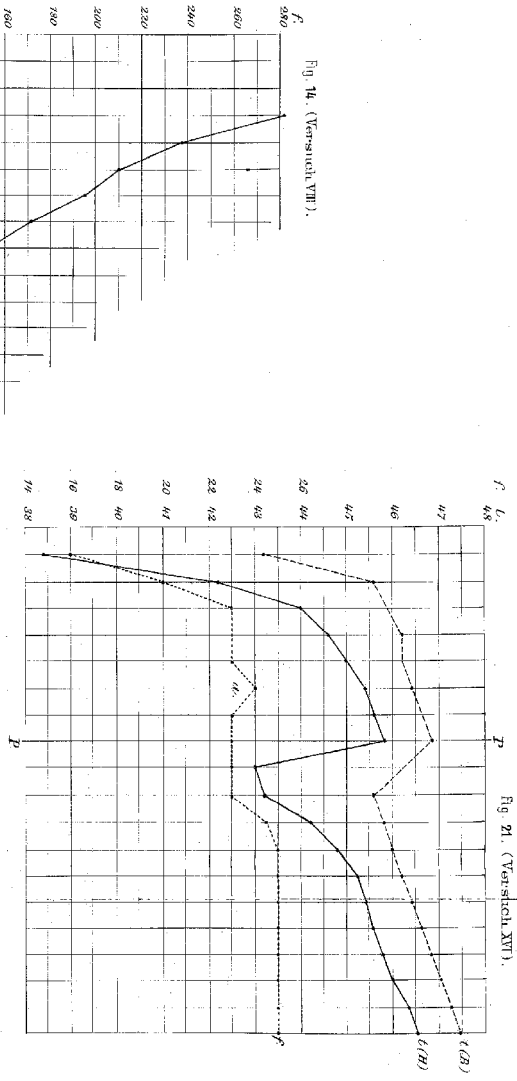


Fig. 21. (Versuch XVI).

Fig. 14 a. (Versuch VIII).

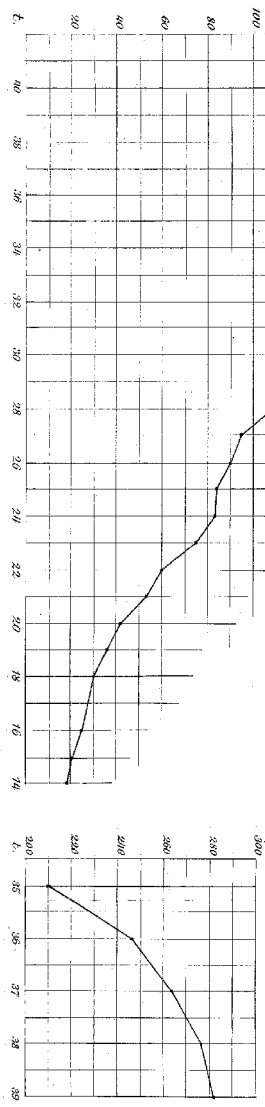


Fig. 1.

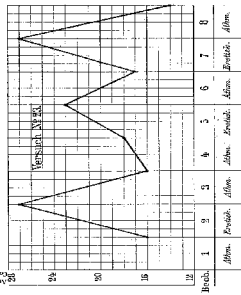
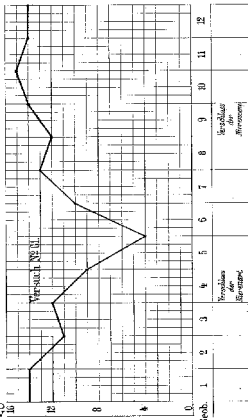
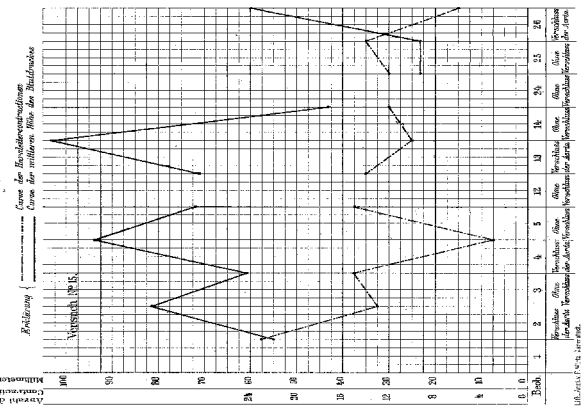


Fig. 2.



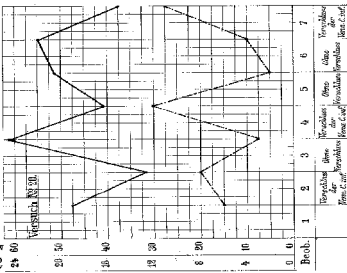
Beobachtet am 2. März.
 Anmerkung zu Fig. 2. Alle Punkte der Curve sind am selben Punkte nicht näher angegeben.

Fig. 3.



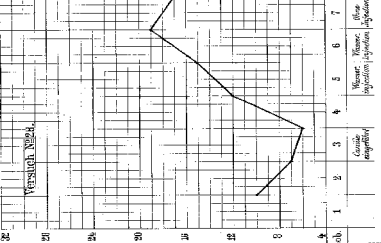
Beobachtet am 2. März.
 Anmerkung zu Fig. 3. Alle Punkte der Curve sind am selben Punkte nicht näher angegeben.

Fig. 4.



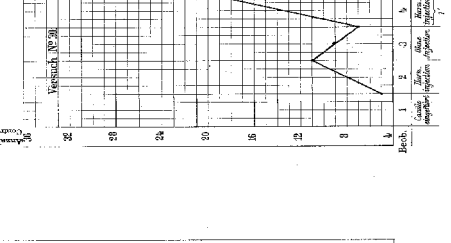
Beobachtet am 2. März.
 Anmerkung zu Fig. 4. Alle Punkte der Curve sind am selben Punkte nicht näher angegeben.

Fig. 5.



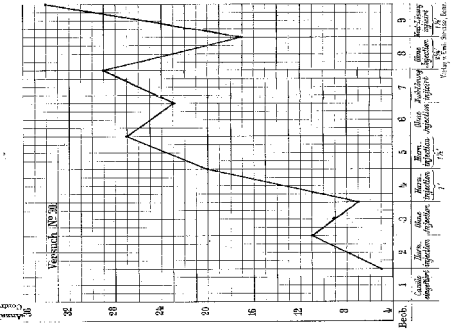
Beobachtet am 2. März.
 Anmerkung zu Fig. 5. Alle Punkte der Curve sind am selben Punkte nicht näher angegeben.

Fig. 6.



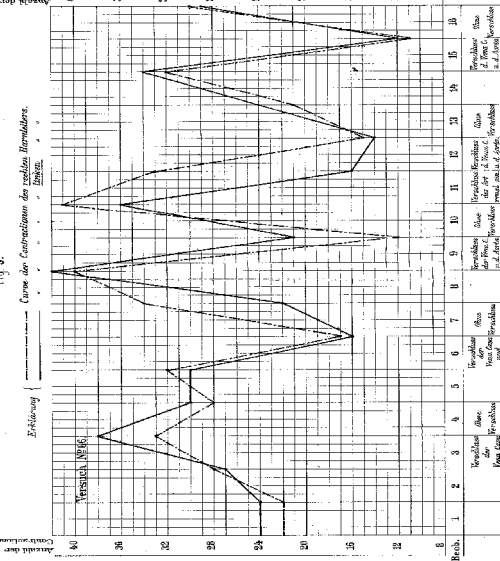
Beobachtet am 2. März.
 Anmerkung zu Fig. 6. Alle Punkte der Curve sind am selben Punkte nicht näher angegeben.

Fig. 7.



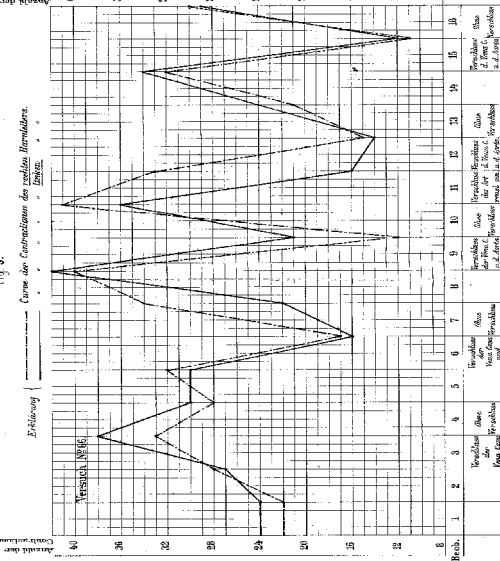
Beobachtet am 2. März.
 Anmerkung zu Fig. 7. Alle Punkte der Curve sind am selben Punkte nicht näher angegeben.

Fig. 8.



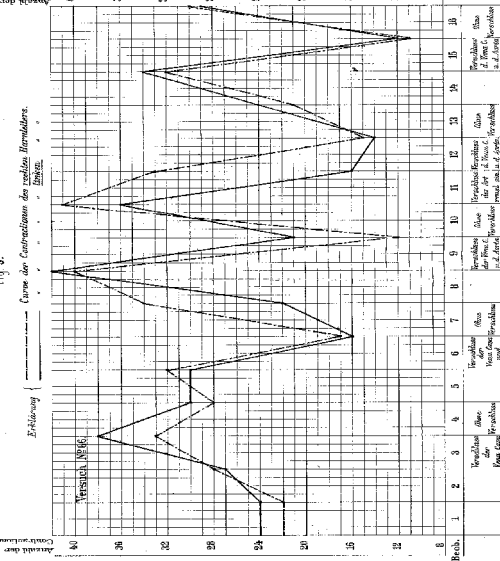
Beobachtet am 2. März.
 Anmerkung zu Fig. 8. Alle Punkte der Curve sind am selben Punkte nicht näher angegeben.

Fig. 9.



Beobachtet am 2. März.
 Anmerkung zu Fig. 9. Alle Punkte der Curve sind am selben Punkte nicht näher angegeben.

Fig. 10.



Beobachtet am 2. März.
 Anmerkung zu Fig. 10. Alle Punkte der Curve sind am selben Punkte nicht näher angegeben.

Fig. 1.
Erklärung in Fig. 8.

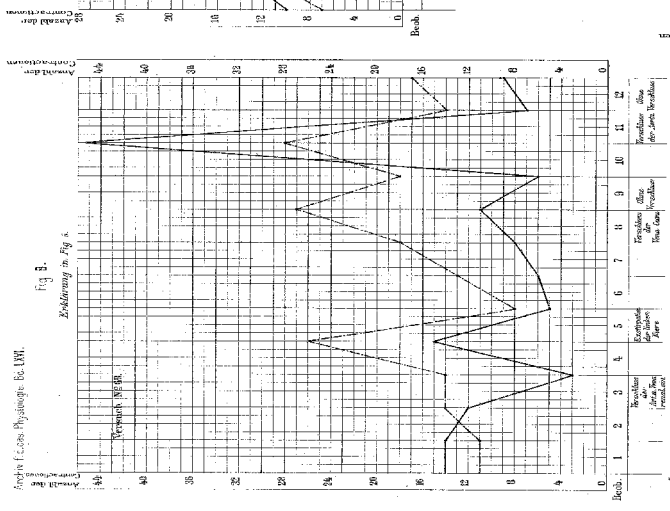


Fig. 9.
Erklärung in Fig. 1.

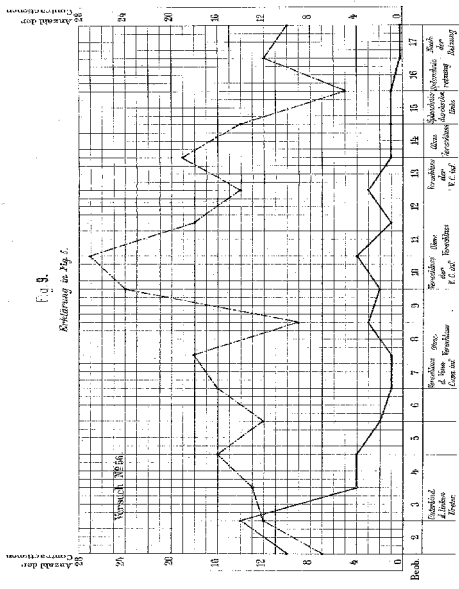


Fig. 11.
Erklärung in Fig. 2.

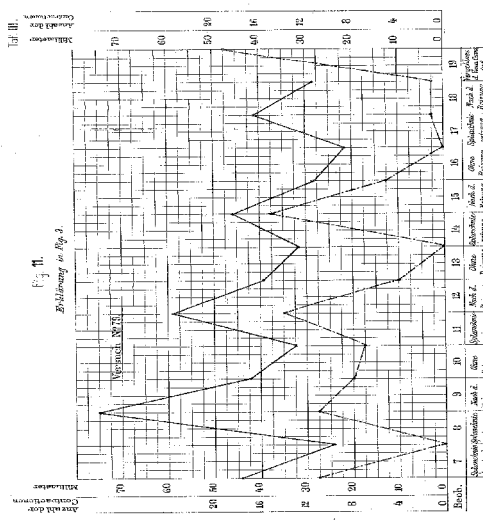


Fig. 10.

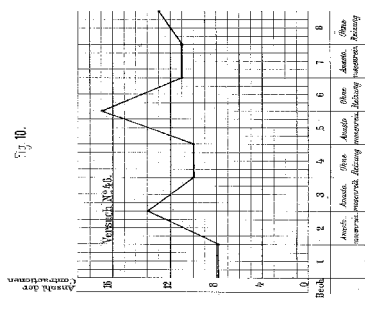


Fig. 12.

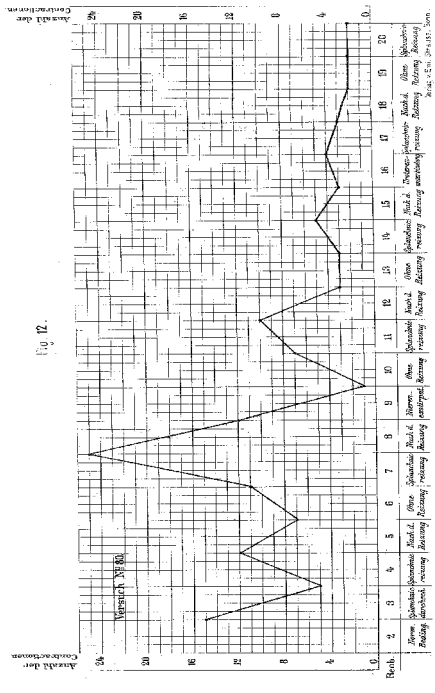
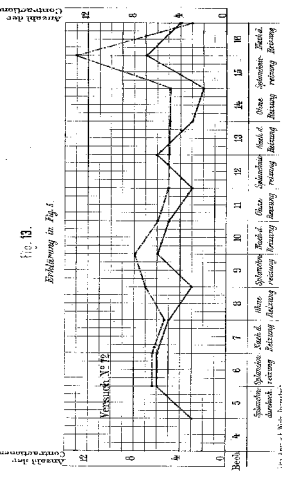


Fig. 13.
Erklärung in Fig. 1.



271. No. 11. 1902. In the...

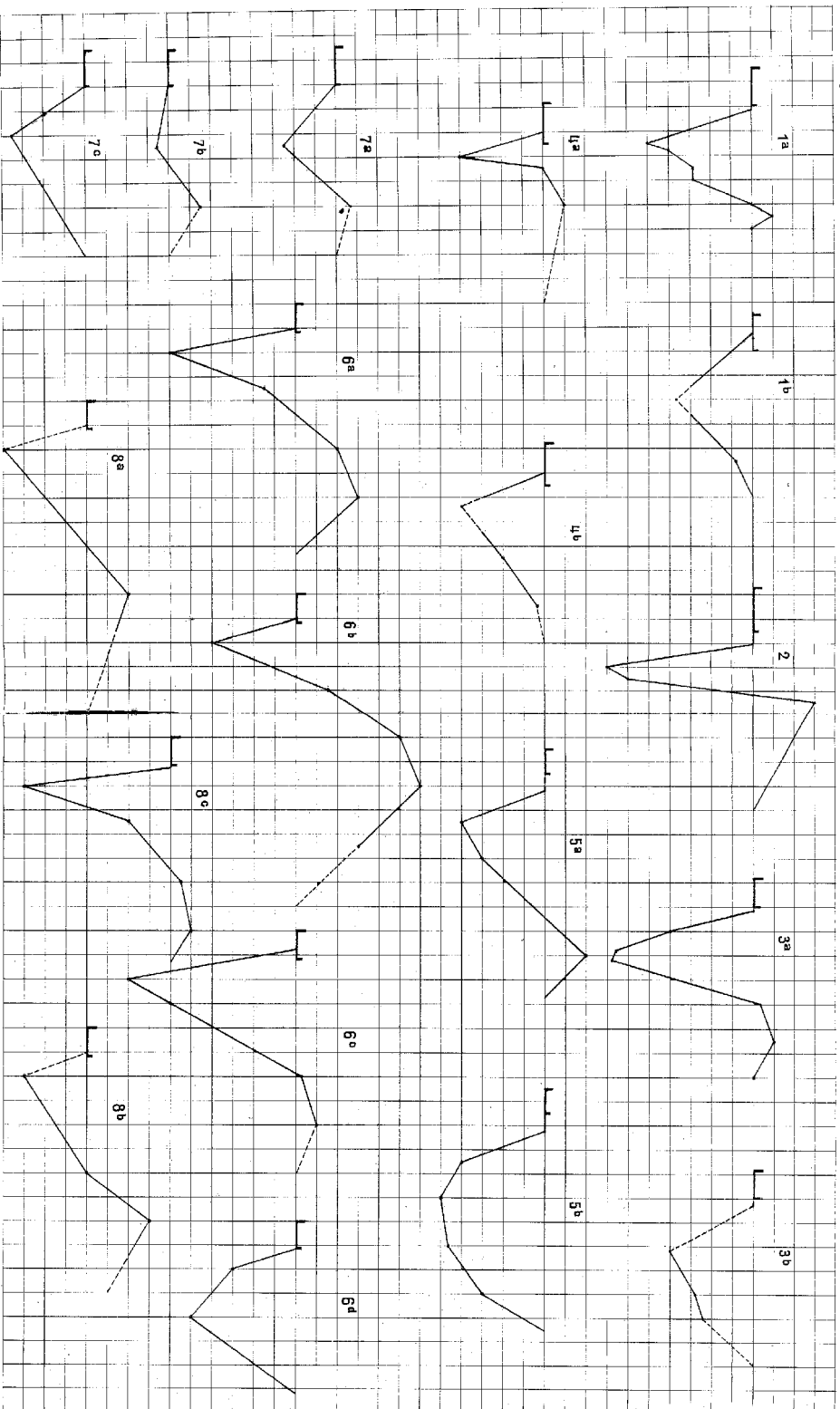


Fig. 1. (Versuch I.)

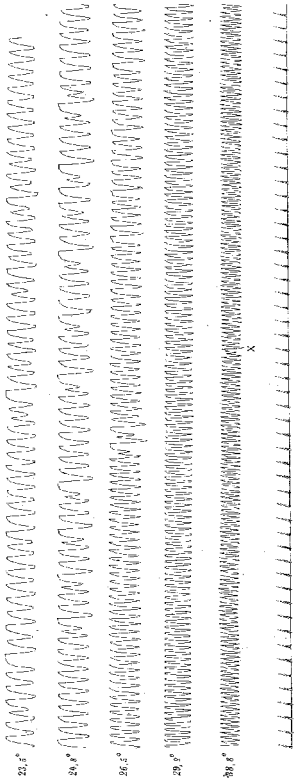


Fig. 2. (Versuch II.)

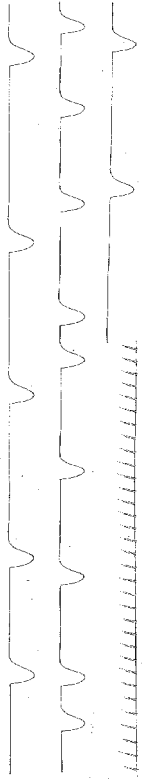


Fig. 3. (Versuch XII)

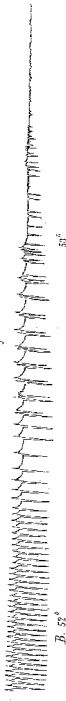


Fig. 4. (Versuch XIII)

