

X.

Ueber die quantitative Bestimmung des Glykogens in der Leber.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Pathologischen Instituts zu Berlin.)

Von A. E. Austin, M. D.

aus Boston U. S. A.

Zur quantitativen Bestimmung des Glykogens in der Leber und in den Organen überhaupt wird jetzt wohl ausschliesslich das Verfahren von R. Külz¹⁾ angewendet, bei welchem die Leber durch anhaltendes Erhitzen mit Kalilauge aufgelöst und die Eiweisskörper dann aus der mit Salzsäure angesäuerten Lösung durch Fällern mit Brücke'scher Lösung beseitigt werden.

Diese Methode ist sehr umständlich und auch nicht frei von Schwierigkeiten, ja von Fehlern.

Der massenhafte, bei Zusatz der Brücke'schen Lösung entstehende Niederschlag von Eiweisskörpern reisst Glykogen mechanisch mit. Um es aus dem Niederschlag herauszubekommen, muss man den Niederschlag wiederholt vom Filter nehmen, mit Wasser unter Zusatz von einigen Tropfen Salzsäure und etwas Brücke'scher Lösung verreiben und auf's Neue auf das Filter bringen²⁾. Bei diesen vielfachen Prozeduren können leicht Verluste stattfinden. Es ereignet sich auch sehr häufig, dass nach der Fällung mit Brücke'scher Lösung die Flüssigkeit durch Filtriren durchaus nicht zu klären ist, auch nicht durch das empfohlene nochmalige Alkalisiren und Wiederansäuern mit Salzsäure. Diese Schwierigkeit hat auch Pflüger empfunden.

¹⁾ Zeitschr. für Biol. XXII. S. 191.

²⁾ Es wurden specielle Versuche darüber angestellt, ob es genüge, den Niederschlag 3 mal zu waschen, statt vom Filter zu nehmen u. s. w. Er wurde also nur gewaschen und so in 3 Versuchen Glykogen erhalten a) 0,3103 g, b) 0,2186 g, c) 0,2735 g. Nunmehr wurden die Niederschläge vom Filter genommen und für sich auf Glykogen verarbeitet. Auf diesem Wege konnte noch restirendes Glykogen erhalten werden a) 0,0415 g, b) 0,0126 g, c) 0,0085 g.

Pflüger¹⁾ empfiehlt in solchen Fällen, die milchige Flüssigkeit, unbekümmert um die Trübung, mit Alkohol zu fällen, den Niederschlag nochmals mit 2procentiger Kalilauge zu behandeln und das ganze Verfahren zu wiederholen.

Es ist auch keineswegs so ganz sicher erwiesen, dass bei dem oft recht langen Erhitzen, welches erforderlich ist, um die Organe zu lösen, in der That nichts von dem Glykogen verloren geht. Ja, es liegen sogar Angaben in der Literatur vor, welche dieses direct besagen.

Pannonow²⁾ hat gefunden, dass beim Erhitzen von abgewogenen Mengen von Glykogen mit 6procentiger Kalilauge 5 pCt. der ursprünglichen Quantität verloren gehen.

So stark darf man nun freilich die Kalilauge bei der Kälz'schen Methode nicht nehmen, sondern höchstens 2procentig. Man muss auch durch Zusatz von Wasser zum Ersatz des verdampften Wassers dafür sorgen, dass diese Concentration nicht überschritten wird. Aber Huppert³⁾ hat bei Gelegenheit seiner Arbeit über das Vorkommen von Glykogen im Blut gefunden, dass auch eine sehr schwache Kalilauge bei langandauerndem Erhitzen nicht ohne Einfluss ist auf Glykogen. Huppert sagt a. a. O. S. 148: „Eine Auflösung von ganz reinem Glykogen in einer nur 0,64procentigen Natronlauge wurde im geschlossenen Rohr 3 Stunden im Wasserbad erhitzt. Die Lösung drehte im Decimeterrohr 0,95 pCt., nach dem Erhitzen 0,88 pCt. und hatte einen deutlichen Stich in's Gelbe angenommen. Eine Drehungsverminderung von 0,07 pCt. bedeutet aber eine Einbusse von 35 mg Glykogen in 100 cem Lösung. Dieser Verlust trat ein bei Verwendung einer nur 0,64procentigen Lösung. Da aber bei dem Auflösen des Blutcoagulums in 2procentiger Lauge eine grössere Menge Glykogen zerstört werden wird, so könnte die Wirkung der Lauge allein genügen, um die geringe, dem Blut zugesetzte Menge Glykogen zum Verschwinden zu bringen“.

Unter diesen Umständen erschien es als ein grosser Fortschritt, als S. Fränkel⁴⁾ eine Methode publicirte, welche seiner

¹⁾ Pflüger's Archiv. Bd. 53. S. 491 und Bd. 55. S. 394.

²⁾ Maly's Jahresb. für Thierh. für 1887. S. 305.

³⁾ Zeitschr. für physiol. Chem. Bd. 18. S. 144.

⁴⁾ Pflüger's Archiv. Bd. 52. S. 125.

Angabe nach gestattete, das Glykogen aus der Leber mit Hilfe einer 2—4procentigen Lösung von Trichloressigsäure schon in der Kälte und ohne jede Reinigung rein und quantitativ genau zu erhalten. Allein Weidenbaum¹⁾ kam bei Nachprüfungen des Fränkel'schen Verfahrens zu ungünstigen Resultaten. Es wurde einerseits nicht alles Glykogen durch Trichloressigsäure extrahirt, andererseits erwies sich das Glykogen stickstoffhaltig, also unrein und es ist denkbar, dass diese beiden Fehler sich annähernd compensirten, so dass das Verfahren unter Umständen scheinbar richtige Resultate liefert.

Es fragte sich nun, ob man die Methode nicht etwas bequemer gestalten, bezw. auch die möglichen Fehler derselben geringer machen könnte. Den Ausgangspunkt meiner Versuche bildeten Beobachtungen von E. Salkowski, welche derselbe bei Versuchen über die Glykogenbildung aus Pentosen²⁾ gemacht hat. Bei diesen Versuchen wurde die Leber der Versuchsthiere (Kaninchen) zuerst mit Wasser allein ausgekocht, dann der Rückstand nach Kütz behandelt. In der Mehrzahl der Fälle war der nach dem Auskochen mit Wasser in dem Rückstand noch bleibende Rest von Glykogen verhältnissmässig gering und man konnte hoffen, dass diese geringere Quantität sich leichter aus dem Niederschlag herausziehen lassen werde, als die ganze Quantität. Auch war dabei ein grosser Theil des Glykogens von vornherein vor der Einwirkung des Alkalis geschützt. Prof. Salkowski hat mich autorisirt, die von ihm damals erhaltenen Zahlen an dieser Stelle mitzutheilen. Aus der Leber der Versuchsthiere wurde Glykogen erhalten

	a) direct	b) aus dem Rest nach Kütz	c) Summe
No. 1	1,526	0,1535	1,6795
No. 2	0,403	0,192	0,595
No. 3	1,3756	0,6822	2,0578
No. 4	1,034	0,0988	1,1328
No. 5	0,1144	0,0130	0,1274
No. 6	0,4374	0,2714	0,7088.

Man sieht hieraus, dass in manchen Fällen der aus dem Rest erhaltene Antheil verhältnissmässig gering, in anderen

¹⁾ Pflüger's Archiv. Bd. 54 und 55.

²⁾ Centralbl. für die med. Wissenschaft. 1893. No. 11.

Fällen aber sehr beträchtlich war, ohne dass sich ein Grund für diese Differenz auffinden lässt. Allerdings ist in diesen Versuchen das Auskochen nicht gerade sehr lange fortgesetzt worden. Ein höchst auffallendes Resultat ergab auch ein Versuch an einer Kalbsleber; aus dieser waren durch Auskochen nur sehr geringe Mengen Glykogen zu erhalten, durch Behandlung des Restes nach Külz aber sehr bedeutende Quantitäten.

Diese auffallenden Verhältnisse sollten weiter erforscht werden. Ehe ich aber daran ging, zunächst die erwähnten Versuche zu wiederholen, wünschte ich zu erfahren, einen wie grossen Unterschied es denn ausmache, wenn man das Glykogen durch einfaches Auskochen und andererseits nach Külz bestimmte. Zu den Versuchen diente Kalbsleber, von welcher 100 g zu dem einen und 100 g zu dem anderen Verfahren genommen wurden. Bei dem Auskochen wurden 100 g feingehackte Leber mit 1 Liter Wasser gut angerührt, dann zum Sieden erhitzt und unter Zusatz einer Spur Essigsäure eine halbe Stunde im Sieden erhalten, wobei sich das in Lösung gegangene Eiweiss gut flockig abschied. Der Auszug wurde durch Leinwand colirt, der Rückstand gut abgepresst, die Auszüge vereinigt und auf 200 ccm eingedampft, mit Salzsäure und Brücke'schem Reagens gefällt u. s. w. In dem erhaltenen Glykogen wurde der Aschengehalt durch Verbrennen bestimmt und in Abzug gebracht. Da er sehr gering war, so ist dieses in einigen Versuchen versäumt.

Die nachfolgende kleine Tabelle enthält die gefundenen Werthe. Das einfache Auskochen ist als A. directe Methode bezeichnet, das Külz'sche Verfahren mit B.

	A. directe Methode	B. Methode von Külz	A. beträgt Procente von B.
No. 1	0,318	0,943	33,7
No. 2	0,034	0,1006 ¹⁾	33,7
No. 3	0,1491	0,953	15,6
No. 4	0,0351	0,1271	28,9.

Daraus geht hervor, dass man durch einfaches Auskochen mit der 10fachen Quantität Wasser aus Kalbsleber im besten

¹⁾ Die Asche betrug bei der directen Methode in No. 3 0,0005, No. 4 0,0033, bei Külz'scher Methode in No. 2 0,003, No. 3 0,005, No. 4 0,0012.

Fall ein Drittel des Glykogens herausbekommt, ein unerwartet niedriges Resultat.

Nunmehr wurden in verschiedenen Materialien einige Versuche in der Weise angestellt, dass die angewendeten Materialien zuerst mit Wasser ausgekocht, dann der Rest nach Külz behandelt wurde. Auch bei diesen Versuchen wurde das Auskochen nicht bis zu völliger Erschöpfung fortgesetzt. Die Resultate sind in der folgenden kleinen Tabelle enthalten:

Versuchsnummer	Angewendetes Material	A. durch Auskochen erhalten	B. aus dem Rest nach Külz	C. Gesamtgehalt	A. beträgt Procente von C.
No. 1	250 g Kalbsleber	0,0532 ¹⁾	0,1308	0,1840	40,6
No. 2	39,8 g Hühnerleber	0,8054	0,1096	0,915	88,02
No. 3	100 g Pferdefleisch	0,1686	0,1852	0,3538	47,6
No. 4	122 g Kaninchenleber	5,65	1,6703	7,320	77,7
No. 5	48,4 g Kaninchenleber	0,0766	0,1312	0,2078	36,8.

Im vierten Versuch musste die Glykogenlösung vor der Fällung mit Alkohol getheilt werden, da es unmöglich gewesen wäre, eine so grosse Quantität Glykogen bis zum constanten Gewicht zu trocknen. Es verdient vielleicht noch Erwähnung, dass auch das Fleisch des Huhnes auf Glykogen untersucht, aber trotz des ziemlich grossen Glykogengehaltes der Leber nur Spuren von Glykogen in den Muskeln gefunden wurden. Allerdings bestanden bei dem Huhn besondere Verhältnisse: es war zu einem anderen Zwecke von Prof. Salkowski längere Zeit — 17 Tage — nur mit Kohlehydraten ernährt worden unter fast völligem Ausschluss von Eiweiss. Ferner ist der hohe Glykogengehalt des Pferde fleisches bemerkenswerth, auf welchen schon Niebel²⁾ aufmerksam gemacht hat, welcher darauf ein Verfahren zur Erkennung von Pferde fleisch und Pferde fleischbeimengungen begründet hat.

Die folgenden Versuche beziehen sich sämmtlich auf Kaninchenleber. Das Auskochen mit Wasser ist diesmal so lange wiederholt, bis die Auszüge keine Spur von Opalescenz mehr zeigten, dennoch ist die aus dem Rest nach Külz noch zu erhaltende Quantität Glykogen sehr erheblich.

¹⁾ Asche, No. 1 A 0,002; No. 1 B 0,0012; No. 2 A 0,0043; No. 2 B 0,0032.

²⁾ Maly's Jahresb.

Versuchs- nummer	Quantität der Leber	A. durch Auskothen erhalten	B. aus dem Rest nach Külz	C. Gesamt- gehalt	A. beträgt Procente von C.
No. 1	22,4	0,516	0,3518	0,8678	59,5
No. 2	17,6	0,0355	0,032	0,0675	52,5
No. 3	22,5	0,2878	0,2735	0,5613	51,2
No. 4	25,1	0,121	0,2186	0,3396	35,6
No. 5	42	1,824	1,1175	2,9415	62,0
No. 6	20,5	0,0214	0,016	0,0374	57,2
No. 7	19,25	0,264	0,271	0,535	49,3
No. 8	31	0,606	0,627	1,233	49,1
No. 9	30,45	0,9085	0,5775	1,486	61,1.

Auch hierbei ist also noch ein sehr erheblicher Theil, durchschnittlich die Hälfte des Glykogens im Rückstand geblieben, ausserdem scheint aus sämtlichen Versuchen hervorzugehen, dass ein um so grösserer Bruchtheil des Glykogens aus der Leber extrahirt wird, je reicher sie daran ist, aber auch dieses ist nicht ausnahmslos der Fall. Wie es kommt, dass Prof. Salkowski im Ganzen bei seinen Versuchen bedeutend höhere Werthe für das direct auskochbare Glykogen in Kaninchenleber erhalten hat, vermag ich nicht zu sagen, vielleicht ist die Anhäufung von Glykogen in Folge der Pentosefütterung Ursache davon.

Es mögen an dieser Stelle noch einige Bemerkungen über die Ausführung der Külz'schen Methode Platz finden. Es ist mir fast nie gelungen, beim ersten Filtriren nach der Fällung mit Brücke'schem Reagens ein klares Filtrat zu erhalten, aber in allen Fällen bis auf zwei wurde dasselbe durch Alkoholzusatz klar, bevor das Glykogen ausfiel. In diesen Fällen habe ich auf diese Trübung keine Rücksicht genommen. In den beiden erwähnten Fällen wurde gleichfalls mit Alkohol gefällt und dann so, wie es Pflüger¹⁾ vorschreibt, der Niederschlag nochmals mit 2procentiger Kalilösung behandelt u. s. w.

Die Ursache dieser Erscheinung scheint mir eine unzureichende Fällung mit Salzsäure und Brücke'schem Reagens zu sein. Es möchte sich daher empfehlen, eine kleine Probe abzufiltriren und das Filtrat auf sein Verhalten zu Alkohol zu prüfen. Wird das Filtrat dabei klar, so filtrirt man das Ganze

¹⁾ Pflüger's Archiv. Bd. 53. S. 491.

und verwendet die Probe dann bei der Fällung mit. Wird es nicht klar, so giesst man die kleine Quantität Filtrat in die Gesamtmasse zurück, spritzt auch das Filter gut nach und setzt mehr Salzsäure und Brücke'sches Reagens hinzu. Es scheint mir, als ob man dieses unangenehme Ereigniss ganz vermeiden kann, wenn man von vornherein einen Ueberschuss von Salzsäure und Brücke'schem Reagens hinzusetzt. Wie ich nachträglich gesehen habe, hat auch Pflüger¹⁾ dieselbe Beobachtung gemacht, hat jedoch Bedenken, ob der Ueberschuss von Salzsäure unter Umständen nicht einen Verlust an Glykogen herbeiführen könnte. Hierüber habe ich keine Versuche gemacht, da mir dieses Bedenken nicht gekommen war und ich von Pflüger's Beobachtung nach dieser Richtung nichts wusste, diese vielmehr erst später kennen lernte.

In Uebereinstimmung mit allen früheren Angaben ist es also nicht möglich, das Glykogen durch Auskochen der Leber mit Wasser auch nur annähernd vollständig zu erhalten, es bedarf vielmehr nothwendig einer „Aufschliessung“ der Leber, welche wesentlich in der Lösung der Leberzellen bestehen muss, und es bietet auch augenscheinlich keinen besonderen Vortheil, die Leber zuerst mit Wasser auszuziehen und den Rückstand nach Külz zu behandeln, anstatt nach der Külz'schen Vorschrift die Leber direct mit Kali zu zerkochen.

Es fragte sich nun, ob die „Aufschliessung“ nothwendig in dem bei der weiteren Verarbeitung viele Unbequemlichkeit mit sich bringenden Kochen mit Kalilauge geschehen müsse oder nicht auch auf einem bequemerem Wege erreicht werden könne.

Prof. Salkowski schlug mir vor, zu versuchen, ob sich die Auflösung der Leber nicht vortheilhaft durch Pepsinverdauung erreichen lasse, ein Gedanke der nahe liegt, nachdem Pflüger und Dormeyer gezeigt haben, dass das Fett aus den Geweben durch Lösungsmittel nicht vollständig extrahirt werden kann, dieses aber sehr wohl möglich ist, wenn man die Gewebe der Pepsinverdauung unterwirft und die entstandene Lösung mit Aether behandelt.

Die Versuche wurden nach folgendem Plan ausgeführt. Von zerhackter Kaninchenleber wurden gleiche Theile abgewogen. Die

¹⁾ Pflüger's Archiv. Bd. 55. S. 394.

eine Hälfte diene zu einer Glykogenbestimmung nach Külz zur Controle des Verfahrens. Die zweite Hälfte wurde zuerst mit Wasser ausgekocht, aus dem Wasserauszug das Glykogen in der üblichen Weise durch Zusatz von Brücke'schem Reagens dargestellt, der Rückstand wurde der Pepsinverdauung unterworfen und der dann noch bleibende Rest wurde nach Külz behandelt. Es bedarf jetzt nur noch einiger Worte über die Art der Anstellung der Verdauung und die Verarbeitung der Verdauungslösung.

Zur Verdauung diene ein aus 2 g Finzelberg'schem Pepsin, welches vor der Anwendung durch Waschen mit Wasser sorgfältig von jeder Spur Milchzucker befreit war, und 1 Liter Verdauungssalzsäure (hergestellt aus 990 ccm Wasser und 10 ccm Salzsäure von 25 pCt. HCl) bereiteter künstlicher Magensaft. Derselbe befand sich in einer Glasstöpselflasche; die beim Auskochen mit Wasser gebliebenen Rückstände wurden in diese hineingebracht und das Ganze unter vielfachem Schütteln so lange bei 40° digerirt, bis anscheinend alles verdaut war, was in der Regel 2 Tage in Anspruch nahm. Nunmehr wurde der Inhalt der Flasche in eine grosse Schale entleert, neutralisirt und auf 200 ccm eingedampft, nochmals mit Salzsäure angesäuert, die Flüssigkeit heiss filtrirt und etwas nachgewaschen. Das Filtrat, welches stets ziemlich stark gefärbt war, wurde mit dem doppelten Volumen Alkohol versetzt und über Nacht stehen gelassen, der Niederschlag abfiltrirt, mit 62procentigem Alkohol nachgewaschen, dann noch feucht sammt dem Filter in eine Schale gebracht und unter Zusatz von wenig Wasser auf dem Wasserbad erwärmt. Dabei löste sich der Niederschlag bis auf einen geringen Rückstand auf, welcher abfiltrirt und mit dem bei der Verdauung gebliebenen Rückstand behufs Verarbeitung nach Külz vereinigt wurde. Das Filtrat nebst Waschwasser wurde in der gewöhnlichen Weise mit Salzsäure und Brücke'schem Reagens gefällt, filtrirt u. s. w. In einem Falle — er betrifft No. 6 in der folgenden Tabelle — wurde das Filtrat ohne vorherige Reinigung durch Brücke'sches Reagens direct mit Alkohol gefällt.

Das durch Verdauung erhaltene Glykogen wich in seinem Aeusseren stets etwas von dem auf anderem Wege erhaltenen ab; es war nicht rein weiss, sondern gelblich und nicht pulvrig, sondern zusammengebacken. Dieses kommt zwar auch bei dem nach dem Külz'schen Verfahren erhaltenen Glykogen vor, aber nicht in diesem Grade. Um so mehr war es erforderlich, das Glykogen auf Gehalt von Stickstoff zu untersuchen und zwar quantitativ nach Kjeldahl, da Weidenbaum in seiner Kritik der Fränkel'schen Methode die Lassaigne'sche Probe als unsicher und nicht entscheidend hinstellt. In allen Fällen erwies sich das Glykogen trotz seiner Färbung als stickstofffrei, aus-

genommen in dem einen Fall (No. 6 der folgenden Tabelle) in welchem die Fällung mit Brücke'schem Reagens unterlassen war. Dieses Glykogen wog 0,8145 g, es enthielt nicht weniger als 0,042 g N entsprechend 0,2625 g Eiweiss, welches in der Tabelle in Abzug gebracht ist. Es ist also klar, dass bei der Darstellung des Glykogens aus der Verdauungslösung das Brücke'sche Reagens nicht entbehrt werden kann.

Die Resultate, welche bei den in angegebener Weise angestellten Versuchen erhalten wurden, sind in nachfolgender Tabelle enthalten.

Versuchsnummer	Gewicht der Leber	A. Mit Wasser ausgezogen	B. Aus dem Rückstand durch Verdauung erhalten	C. Aus dem Verdauungsrückstand nach Külz erhalten	Summe von A+B+C	Controlbestimmung nach Külz	Die Verdauungsmethode hat	
							mehr	weniger
No. 1	25,6	0,558	0,4445	0,0195	1,0220	0,991	0,031	
No. 2	22,5	0,3128	0,250	0,009	0,5118	0,561	0,108	
No. 3	42	2,0835	0,735	0,065	2,8825	2,9414	—	0,058
No. 4	20,5	0,0105	0,022	Spur	0,0325	0,0374	—	0,0049
No. 5	19,25	0,258	0,3295	Spur	0,5875	0,535	0,0525	
No. 6	31	0,598	0,552	0,0115	1,1615	1,233	—	0,0715
No. 7	30,45	0,9065	0,619	0,017	1,5425	1,486	0,0565	

Die Külz'sche Methode hat also in 4 Fällen etwas weniger Glykogen geliefert, in 3 Fällen etwas mehr.

Für die praktische Anwendung käme nun in Betracht, ob man die nachträgliche Behandlung des bei der Verdauung erhaltenen Rückstandes nach Külz nicht entbehren könne, denn nur dann wäre in dem neuen Verfahren ein wirklicher Vortheil zu sehen. Freilich ist es an sich schon ein Vortheil, dass die Quantität des Niederschlages, aus welchem das Glykogen ausgezogen werden muss, sehr viel geringer ist, als bei dem Külz'schen Verfahren. Dem steht aber als Nachtheil die grössere Umständlichkeit des Verfahrens gegenüber.

Zu einem Urtheil darüber, ob die Behandlung des Verdauungsrückstandes nach Külz nicht zu entbehren sei, wird man am besten gelangen, indem man die Summe von A+B mit dem Werth vergleicht, welchen die Külz'sche Controlbestimmung ergeben hat.

Diese Zahlen sind nachfolgend einander gegenübergestellt.

	Verdaunungsmethode	Külz'sche Methode	Differenz
No. 1	1,0025	0,991	+0,0155
No. 2	0,5628	0,561	+0,0018
No. 3	2,8185	2,9414	—0,1229
No. 4	0,0325	0,0374	—0,0051
No. 5	0,5875	0,535	+0,0525
No. 6	1,150	1,233	—0,0830
No. 7	1,5425	1,486	+0,0565.

Addirt man sämtliche positive einerseits und die negativen Differenzen andererseits, so erhält man als positive Differenz der Verdaunungsmethode in 4 Versuchen 0,1263, als negative in 3 Versuchen 0,2110 g, indessen muss zugegeben werden, dass diese Art der Betrachtung doch eine zu grob mechanische ist. Ausserdem ist die Anzahl der Einzelversuche zu bestimmten Schlussfolgerungen zu gering. Immerhin kann man so viel sagen, dass das Verfahren der weiteren Bearbeitung werth ist und dass es, wenn man es nicht gerade auf die letzte Genauigkeit absieht, auch genügt. Eine Vereinfachung des Verfahrens würde darin liegen, dass man die Leber zum Sieden erhitzt und dann den Auszug nicht für sich auf Glykogen verarbeitet, sondern mit zur Herstellung der Verdauungslösung benutzt. Hierüber stehen Versuche noch aus, die ich leider aus äusseren Gründen nicht machen konnte, die aber demnächst im Laboratorium ausgeführt werden sollen.

Was die Ausführung des Verfahrens betrifft, so möchte ich noch hervorheben, dass die albumosehaltige Lösung nicht weiter als auf 200 ccm eingedampft werden darf, sonst liegt die Gefahr vor, dass Albumosen durch den Alkohol mitgefällt werden.

Obwohl in den mitgetheilten Zahlen schon ein Gewähr dafür liegt, dass bei der Verdauung kein Glykogen in Zucker übergeht, so sind darüber doch noch Versuche angestellt worden, niemals aber war es möglich in den verdauten Lösungen nach Fällung des Glykogens Zucker nachzuweisen, die Pepsinsalzsäure äussert also keine hydrolytische Wirkung auf Glykogen.

Endlich habe ich noch über Versuche zu berichten, welchen der Wunsch zu Grunde lag, einen vollgültigen Beweis für die Reinheit des durch die Verdaunungsmethode gelieferten Glykogens

zu liefern. Es sollte festgestellt werden, dass das Verdauungsglykogen nach dem Erhitzen mit Säuren die richtige Quantität Traubenzucker liefert und zwar sollte dieses ermittelt werden durch Titrieren mit Fehling'scher Lösung.

Nimmt für das Glykogen mit Huppert¹⁾ die Formel $6(C_6H_{10}O_5) + H_2O$ an, welche nach Allem die wahrscheinlichste ist, so liefern 11 Theile Glykogen 12 Theile Dextrose, bzw. 100 Theile Glykogen 109,09 Theile Traubenzucker. Es sollte nun zuerst festgestellt werden, ob diese Relation sich auch durch Titrieren mit Fehling'scher Lösung bestätigen lässt, bzw. es sollte festgestellt werden, wieviel Zucker, nach Fehling bestimmt, notorisch reines Glykogen liefert. Als solches stellte mir Prof. E. Salkowski 2 Präparate zur Verfügung, das eine aus Kaninchenleber nach Fütterung mit Dextrose, das andere nach Fütterung mit Arabinose stammend. Abgewogene, bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrocknete Quantität derselben²⁾ wurden in einem Kolben mit etwa 100 ccm Salzsäurelösung übergossen (bestehend aus 10 ccm Salzsäure von 1,124 spec. Gew. und 90 ccm Wasser), der Kolben 3 Stunden lang in siedendes Wasser versenkt unter zeitweisem Zusatz von ein wenig Wasser zum Ersatz des verdampften. Nach dem Abkühlen wurde die Lösung alkalisirt, auf das Volumen von 200 ccm gebracht und dann diese Lösung nach Fehling titirt. Das erste Präparat lieferte 111,19 pCt. Zucker, das zweite 112,45 pCt. Beide Zahlen stehen im Widerspruch mit der Huppert'schen Formel, würden vielmehr dafür sprechen, dass genügend bei 110° getrocknetem Glykogen die Formel $C_6H_{10}O_5$ zukommt, von welchen 100 Theile 111,11 Traubenzucker liefern würden. Keineswegs aber bin ich der Ansicht, dass diese Titrirung zu Gunsten der einen oder anderen Formel spricht, dazu ist dieselbe nicht genau genug. Jedenfalls aber war festgestellt, dass unter Benutzung der bestimmten Fehling'schen Lösung 100 Theile reines Glykogen zwischen 111,19 und 112,45 pCt. Zucker lieferten.

0,533 durch Verdauung in der angegebenen Weise hergestelltes Glykogen lieferte 0,6004 g Zucker bei der Bestimmung

¹⁾ Zeitschr. für physiol. Chem. Bd. 18. S. 142.

²⁾ in einem Fall 0,469 g, im anderen 0,467 g.

= 112,64 pCt., das Glykogen war also sicher als rein zu betrachten.

Ich verkenne nicht, dass noch manche Versuche zur Klärung der Frage wünschenswerth, unter anderem der Versuch, ob man die Leber auch direct, eventuell nach vorherigem Erhitzen verdauen könne; ferner wäre es sehr wünschenswerth gewesen, die Reinheit des durch Verdauung erhaltenen Glykogens auch durch Elementaranalysen festzustellen, leider aber war ich aus äusseren Gründen genöthigt, die Arbeiten abzubrechen.

Schliesslich kann ich nicht umhin, Herrn Prof. Salkowski für seine freundliche Anregung zu dieser Arbeit und Unterstützung bei Ausführung derselben meinen herzlichsten Dank auszusprechen.
