(Aus dem physikalisch-chemischen Laboratorium in Göttingen.)

Das Molekulargewicht des Glykogenes.

Von

Mme **Z. Gatin-Gružewska.**

Das Molekulargewicht des Glykogenes war von Sabanejew[1]) nach Raoult's Methode bestimmt. Der Autor benutzt ein im Vacuum über H_2SO_4 getrocknetes Präparat. Die Glykogenlösungen sind 4—8 %, und die Werthe von zwei Versuchen betragen 1545 und 1625. Diese Zahlen entsprechen ungefähr der Formel $(C_6H_{10}O_5)_{10}$, welche 1620 verlangt. Diese letzte Zahl wurde als Molekulargewicht des Glykogenes von Sabanejew angegeben, allgemein angenommen und in die besten Handbücher der biologischen Chemie eingeführt.

Kryoskopische Bestimmungen.

Ich habe meine kryoskopischen Bestimmungen mit einem Hundeleberglykogen ausgeführt. Das Präparat war im Vacuum über Chlorcalcium getrocknet. Die Methode der Reinigung, die Reinheit des Präparates, wie auch seine anderen Eigenschaften sind genau in meiner letzten Arbeit über „Das reine Glykogen“[2]) angegeben.

Die Versuche sind nach der Methode und mit dem Apparat von Nernst-Abegg[3]) ausgeführt.

Der Apparat besteht aus einem cylindrischen, starkwandigen, 11 cm hohen Gefriermantel, in den ein Becherglas als Gefriergefäss auf Korkringen gestellt werden kann. Alles ist mit einer dicken, aufgeschliffenen, mit drei Durchbohrungen versehenen Glasplatte

1) Bestimmung des Molekulargewichts von Colloïden nach der Raoult'schen Methode. Journ. d. russ. phys.-chem. Gesellsch. 1889 S. 515—525. Ref.: Chem. Centralbl. Bd. 1 S. 10. 1891; Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. 5 S. 192.

2) Das reine Glykogen. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 102 S. 569—591. 1894.

3) Ueber den Gefrierpunkt verdünnter Lösungen. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. 15 S. 681—683. 1894.

mittelst einer Verschraubung abgeschlossen. In die mittlere Durchbohrung wird ein gewöhnliches Bechman'sches Thermometer wasserdicht eingesetzt. In den beiden lateralen Oeffnungen sind 10 cm hohe Glasröhren eingekittet. Die eine Glasröhre dient zum Durchführen des Rührers, die andere zum Einpipettiren der Lösungen. Der Rührer besteht aus einer runden, mit einer concentrischen Oeffnung für die Thermometerkugel versehenen Messingblechscheibe. Die Scheibe ist am Rande an vier Stellen radial ausgeschnitten und die eine Kante auf- und abwärts gebogen. Ein Kupferdraht ist auf der Scheibe angelötet und derselbe in eine Glasröhre, die den Stiel des Rührers bildete, eingekittet. Die Messingscheibe wie der Kupferdraht sind mit Asphaltlack überzogen.

Der ganze Apparat wurde während der Versuche in eine Kältemischung von Eis, Kalialaun und ein wenig NaCl eingebettet. Die Temperatur der Kältemischung hielt sich constant auf — 0,5 bis — 0,6 °, und die Eisschicht über dem Deckel des Gefriermantels betrug 6—7 cm.

100 ccm Wasser wurden im Gefriergefässe in eine Kältemischung von — 3 ° gestellt und unter langsamem Rühren auf — 1,2 ° bis — 1,5 ° überkühlt.

Während der Zeit wird der Gefriermantel mit dem Thermometer auf 0 ° gebracht.

In dem Augenblicke, wo spontan oder durch schnelleres Rühren die Eisausscheidung eintritt, bringt man schnell das Gefriergefäss in den Gefriermantel, verschraubt den Deckel mit dem Thermometer und stellt den Apparat in die Eis- und Kalialaunmischung.

Der Rührer wurde mit der Hand bewegt und genau 60 nach dem Chronometer geregelte Bewegungen pro Minute gemacht. Die Amplitude wurde so gewählt, dass die Scheibe des Rührers nicht aus der Lösung kam. Die Ablesung des Thermometers geschah mit einer speciellen, ungefähr 8 cm langen, mit Parallaxen versehenen Lupe, mit welcher 0,001 ° geschätzt werden konnte.

Die Gefriertemperatur des Wassers wurde jede 30 Secunden beim Anklopfen des Thermometers abgelesen, und als deren Unveränderlichkeit nach 15 oder 20 Minuten sich erwies, wurde die zu untersuchende Lösung einpipettirt.

Eine besonders zu diesem Zwecke verfertigte Pipette von 10 ccm wurde mit der Lösung in der Kältemischung von — 0,5 ° eine halbe Stunde gehalten, dann die Lösung so schnell wie möglich

in das Gefriergefäss einpipettirt. Das Thermometer wurde beim Anklopfen und unter fortwährendem Umrühren der Lösung abgelesen. Wenn einmal das Gleichgewicht sich eingestellt hat und die Gefriertemperatur constant blieb, konnte man denselben Thermometerstand stundenlang beobachten.

Um mich von der Zuverlässigkeit des Thermometers zu überzeugen, habe ich einen Versuch mit HCl angestellt.

Die Controlversuche, nach denen ich meine Glykogenbestimmungen beurtheilte, habe ich mit sehr verdünnten Rohrzuckerlösungen ausgeführt.

Als molekulare Gefrierpunktserniedrigung für organische Substanzen war die Zahl 1,86 von Nernst-Abegg genommen (für HCl das Doppelte davon) und das Molekulargewicht nach der von Raoult[1]) angegebenen Formel ausgerechnet. $M = 18{,}6 \frac{C}{G}$.

G = Gefrierpunktserniedrigung.
C = Concentration der angewendeten Lösung, in Gramm auf 100 ccm H_2O berechnet.
M = Molekulargewicht.

HCl.

C	G		M
0,0181 g	Berechnet	= 0,0185°	36,47
	Beobachtet	= 0,018°	37,40

Bei Rohrzuckerversuchen wurden 10 ccm einer 2 %igen Lösung einpipettirt.

Rohrzucker.

Versuch	C	G		M
	0,1818 g	Berechnet	= 0,0098°	342
1. . . .	0,1818 „	Beobachtet	= 0,009°	375
2. . . .	0,1818 „	„	= 0,009°	375
3. . . .	0,1818 „	„	= 0,009°	375

Glykogen.

10 ccm einer ungefähr 20 %igen Glykogenlösung wurden einpipettirt; nach jedem Versuch wurde noch das Trockengewicht der

1) Ueber Präcisionkryoskopie, sowie einige Anwendungen derselben auf wässerige Lösung. Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. 27 S. 617—661. 1898.

angewendeten Lösung durch Abdampfen einer bestimmten Menge festgestellt.

Versuch	*C*	*G*	*M*
1	1,930 g	0°	—
2	4,450 „	0°	—
Nach Sabanejew berechnet:			
	4,450 g	0,051°	1620

Um eine grössere Genauigkeit der Gefrierpunktserniedrigung zu erreichen, habe ich mich eines grösseren Bechman'schen Thermometers bedient, der auf der ganzen Scala nur einen Grad zeigte, und auf welchem man mit Genauigkeit 0,001° ablesen und 0,0001° schätzen konnte.

Das Verfahren war genau dasselbe, nur der Apparat war 17 cm hoch, und das Gefriergefäss musste mit 200 ccm H_2O beschickt werden.

Die Pipette, deren ich mich bediente, fasste 20 ccm, und das Gefäss mit der Kältemischung war sehr gross gewählt.

Rohrzucker.

Versuch	*C*	*G*	*M*
	0,1818 g	Berechnet = 0,0098°	342
1 . . .	0,1818 „	Beobachtet = 0,0092°	367
2 . . .	0,1818 „	„ = 0,0096°	352
3 . . .	0,1818 „	„ = 0,0094°	359.

Glykogen.

Zupipettirt 20 ccm einer ungefähr 19,5 %igen Glykogenlösung.

Versuch	*C*	*G*	*M*
1	1,590 g	0°	—

Die Glykogenlösung von 1,59 % von dem Versuch 1 wurde als Ausgangspunkt genommen, dazu 20 ccm einer ungefähr 25,5 %igen Glykogenlösung einpipettirt.

Versuch	*C*	*G*	*M*
2	3,850 g	0,0001°	716100.

Concentrirtere Glykogenlösungen kann man zu den kryoskopischen Bestimmungen nicht anwenden, weil das Glykogen die Eiskryställchen zu mehr oder wenig grossen Klumpen zusammenklebt. Es sei auch hier gesagt, dass es mir nicht gelungen ist, eine mehr

als 26 %ige Glykogenlösung herzustellen; sie hat dann ein ölartiges Aussehen und eine eigenthümliche gelbliche Färbung.

Die Glykogenversuche gaben also keine Gefrierpunktserniedrigung; denn die bei dem letzten Versuche beobachtete Erniedrigung fällt in die Grenzen der Beobachtungsfehler.

In der letzten Versuchsreihe mit dem empfindlichen Thermometer haben sich die Gefrierpunktserniedrigungen für Rohrzucker im Mittel um 0,0004° zu klein erwiesen. Wenn man von der Genauigkeit dieser Controlversuche auf die Genauigkeit der Glykogenbestimmungen schliessen wollte, so ergäbe sich als Grenzwerth für das Molekulargewicht des Glykogenes eine Zahl, die über **140 000** steigt.

Aus diesen Versuchen geht klar hervor, dass das von Sabanejew angegebene und allgemein angenommene Molekulargewicht des Glykogenes (1620) falsch ist, und dass die von ihm beobachtete Gefrierpunktserniedrigung in der Verunreinigung der Substanz ihren Grund hat. Wesshalb der Autor mit bei 115° C. getrocknetem Glykogen noch viel grössere Erniedrigungen gefunden hat, das habe ich in der Arbeit[1]), die ich in dem physiologischen Laboratorium von Herrn Professor Pflüger ausgeführt habe, erklärt.

Die oben angeführten Ergebnisse kann man auf zweifache Weise deuten: Entweder ist das Glykogen in Wasser schwer löslich und sein Molekulargewicht ist ungemein gross, oder das Glykogen ist in Wasser unlöslich und dann kann sein Molekulargewicht beliebig gross sein.

Ich möchte noch bemerken, dass diese Versuche ebenfalls für die absolute Reinheit des Präparates und für die Trefflichkeit der von mir zur Reinigung des Glykogenes angewendeten Methode sprechen.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, dem Herrn Professor Nernst für die Erlaubniss, in seinem Laboratorium arbeiten zu dürfen, und für sein freundliches Entgegenkommen meinen besten Dank aussprechen zu können.

---

1) Das reine Glykogen (S. 573). Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 102 S. 569 bis 591. 1904.