

# **Einwirkung von Ammoniakgas auf Invertase.**

## **IV. Mitteilung.**

Von

**Theodor Panzer.**

(Der Redaktion zugegangen am 29. März 1913.)

In derselben Absicht, in welcher das Verhalten der Diastase gegen Ammoniakgas geprüft wurde, sind auch die folgenden Versuche unternommen worden. Sie sollten Vorversuche bilden für eine Versuchsreihe, welche über das Verhalten von Ammoniakgas zu den mit Chlorwasserstoff behandelten Fermentpräparaten Aufschluß geben sollten. Sie sollten aber andererseits auch ein Pendant zu der Untersuchung über die Einwirkung von Ammoniakgas auf Diastase sein.

Die Methoden folgten peinlich bis ins Detail den bisherigen Untersuchungen. Ich brauche daher über diesen Punkt kein Wort zu verlieren und verweise nur auf die früheren Untersuchungen.<sup>1)</sup>

Verwendet wurde dasselbe Invertasepräparat, von welchem Proben schon für die Untersuchung mit Chlorwasserstoffgas gedient hatten.

Dieses Präparat enthielt:

Stickstoff	5,57 %
Asche	22,21 %
Amidstickstoff	2,30 %
Formoltitrierbaren Stickstoff	3,17 %

Acidität entsprechend 160,2 ccm Normallauge für 100 g Substanz.

Bei den im folgenden aufgestellten prozentischen Berechnungen folge ich dem bisher beobachteten Grundsatz und

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 82, S. 276; Bd. 82, S. 377 u. Bd. 84, S. 161.

berechne die prozentischen Werte auf 100 Teile unveränderter Substanz.

### Behandlung mit Ammoniakgas.

Verwendete Menge des Invertasepräparates	Aufgenommene Ammoniakmenge	In Prozenten
g	g	
0,1945	0,0087	4,47
0,4850	0,0224	4,62
0,4905	0,0180	3,67
0,2195	0,0133	6,06
0,5579	0,0220	3,94
0,5502	0,0236	4,29
0,5281	0,0225	4,26
0,6129	0,0223	3,64

### Auspumpversuche.

a) In Grammen:

	I	II	III
Verwendete Menge des Invertasepräparates .	0,1945	0,4850	0,4905
Aufgenommene Ammoniakmenge . . . . .	0,0087	0,0224	0,0180
Das Präparat enthielt noch Ammoniak:			
am 1. Tage . . . . .	0,0044	—	0,0071
» 2. » . . . . .	0,0029	0,0024	—
» 3. » . . . . .	—	0,0013	0,0023
» 4. » . . . . .	0,0012	0	0,0026
» 5. » . . . . .	0,0011	0	—
» 6. » . . . . .	0,0014	0	0
» 7. » . . . . .	—	0	0
» 8. » . . . . .	0,0008	0	0
» 9. » . . . . .	0,0017	0	0
» 10. » . . . . .	—	0	0
» 11. » . . . . .	0	0	0
Konstantes Gewicht des Präparates am Ende des Versuches . . . . .	0,1945	0,4834	0,4898

In Prozenten :

	I	II	III
Aufgenommenes Ammoniak . . . . .	4,47	4,62	3,67
Das Präparat enthält noch Ammoniak :			
am 1. Tage . . . . .	2,26	—	1,45
2. . . . .	1,49	0,49	—
3. . . . .	—	0,27	0,47
4. . . . .	0,62	0	0,53
5. . . . .	0,57	0	—
6. . . . .	0,72	0	0
7. . . . .	—	0	0
8. . . . .	0,41	0	0
9. . . . .	0,87	0	0
10. . . . .	—	0	0
11. . . . .	0	0	0

Durch die Behandlung mit Ammoniak ist das Aussehen des Präparates nicht sichtlich verändert worden.

Die Ammoniakmengen, welche das Invertasepräparat aufgenommen hat, schwanken wieder in den einzelnen Versuchen. Sie sind bedeutend kleiner als die Chlorwasserstoffmengen, welche von demselben Präparate aufgenommen worden sind, dagegen größer, als die Ammoniakmengen, welche die Diastasepräparate aufgenommen hatten.

So wie die Diastasepräparate gibt auch das Invertasepräparat das aufgenommene Ammoniak beim Auspumpen rasch wieder ab. Allerdings bleibt hier wie dort nach dem Auspumpen, trotzdem die Präparate auf ihr früheres Gewicht zurückgekehrt sind, etwas zurück, was bei der Bestimmung der Acidität und bei der Formoltitrierung sich als Ammoniakderivat kenntlich macht und offenbar auf eine chemische Verbindung zu beziehen ist, die das Ammoniak mit Bestandteilen des Präparates eingegangen. Darum ist es strenggenommen nicht ganz richtig, die Gewichtsunterschiede vollkommen mit der Aufnahme und Abgabe von Ammoniak zu identifizieren.



## Bestimmung der Acidität.

Die als Auspumpversuche bezeichneten Versuche sind die Auspumpversuche II und III.

Verwendete Menge des Invertasepräparates g	Ammoniak- gehalt g	Normalflüssigkeit verbraucht	
		zur Neutralisation ccm	zur Formoltitrierung ccm
0,5281	0,0225	— 0,335	2,142
0,6129	0,0223	— 0,183	2,195
Auspumpversuche.			
0,4850	0	0,451	1,267
0,4905	0	0,448	1,342

In prozentischer Berechnung:

Ammoniak- gehalt %	Acidität		
	nach der Behandlung mit Ammoniak ccm	des ursprünglichen Präparates ccm	Abnahme ccm
4,26	— 63,4	160,2	223,6
3,64	— 29,9	160,2	190,1
Auspumpversuche.			
0	93,0	160,2	67,2
0	91,3	160,2	68,9

## Formoltitrierung.

In prozentischer Berechnung:

Formoltitrierbarer Stickstoff		
nach der Behandlung mit Ammoniak %	des ursprünglichen Präparates %	Zunahme %
5,66	3,17	2,49
5,02	3,17	1,85
Auspumpversuche.		
3,66	3,17	0,49
3,83	3,17	0,66

Die gefundenen Werte sollen an der Hand jener Betrachtungen diskutiert werden, welche bei der Einwirkung von Ammoniak auf Diastasepräparate angestellt worden sind. Dementsprechend will ich zunächst aus der Acidität und dem formoltitrierbaren Stickstoff des ursprünglichen Präparates jene Menge von Ammoniak berechnen, welche von dem Präparate zu Ammoniumsalz gebunden werden kann:

Ammoniak entsprechend der Acidität:	1,73%
Dem formoltitrierbaren Stickstoff:	3,86%
Zu Ammoniumsalz gebunden:	<u>5,69%</u>

Vergleicht man mit dieser Zahl die Werte, welche für aufgenommenes Ammoniak gefunden worden sind, so liegen diese mit einer einzigen Ausnahme niedriger, ein Zeichen dafür, daß die Ammoniumverbindungen des Invertasepräparates schon beim Überleiten von Luft teilweise zersetzt werden. Die vollständige Zersetzung scheint dann beim Auspumpen zu erfolgen.

Um die Gewichtszunahme mit der Abnahme der Acidität und dem Zuwachs an formoltitrierbarem Stickstoff vergleichen zu können, berechne ich wieder die der Gewichtszunahme als Ammoniak betrachtet, sowie die der Aciditätsabnahme äquivalente Stickstoffmenge.

1. Ge- wichts- zu- nahme %	2. der Gewichtszunahme äquivalente Stickstoffmenge %	3. Aci- ditäts- ab- nahme ccm	4. der Aciditätszunahme äquivalente Stickstoffmenge %	5. Zunahme an formoltitrierbarem Stickstoff %
4,26	3,50	223,6	3,27	2,49
3,64	2,99	190,1	2,66	1,85
Auspumpversuche.				
0	0	67,2	0,94	0,49
0	0	68,9	0,97	0,66

Die Kolonnen 2, 4 und 5 miteinander verglichen, zeigen nirgends Übereinstimmung. Die genannten Veränderungen gehen daher nicht in äquivalenten Verhältnissen vor sich. Sie können

auch nicht mit den Schemen, welche in der Abhandlung über Ammoniakdiastase für bestimmte Prozesse, wie Bildung von Ammoniumsalz, von Säureamid usw. aufgestellt worden sind, zur Deckung gebracht werden. Ich finde auch keine Anhaltspunkte, um die beobachteten Veränderungen aus der Kombination mehrerer Prozesse zu erklären.

Das eine aber ist klar: Da das Gesamtbild der Veränderungen nicht mit dem Bilde übereinstimmt, welches für die Adsorption und für die Bildung von Ammoniumsalz charakteristisch befunden worden ist, so müssen noch andere chemische Prozesse stattgefunden haben. Diese Prozesse sind in den Versuchen, bei welchen nicht ausgepumpt worden ist, andere, als in den Abspumpversuchen.

Endlich verweise ich darauf, daß, wenn auch nicht gerade zwei Kolonnen Übereinstimmung zeigen, doch bei ein und derselben Art von Versuchen die Differenzen zwischen zwei Kolonnen sich immer in derselben Richtung und ungefähr in denselben Größen bewegen. Dies ist gewiß kein Zufall. Sondern es scheint mir darauf hinzuweisen, daß neben der Adsorption und der Bildung von Ammoniumsalz nur ein oder einige wenige Prozesse in Frage kommen.

#### Bestimmung des Amidstickstoffes.

Nachdem das Ammoniak durch Behandlung mit Magnesiumhydroxyd entfernt worden war, lieferten die Bestimmungen des Amidstickstoffes folgende Zahlen:

0,5579 g hatten aufgenommen 0,0220 g = 3,94% Ammoniak und lieferten 21,6 ccm Stickstoff bei 21,1° C. und 743,4 mm.

0,5502 g hatten aufgenommen 0,0236 g = 4,29% Ammoniak und lieferten 19,0 ccm Stickstoff bei 20,6° C. und 744,2 mm.

In Prozenten:

Ammoniakgehalt	Amidstickstoff	
	mit Ammoniak behandeltes Präparat	ursprüngliches Präparat
3,94	2,15	2,30
4,29	1,93	3,20



Die mit Ammoniak behandelten Präparate entwickelten, nachdem das Ammoniak durch Magnesiumhydroxyd entfernt worden war, weniger Stickstoff als das ursprüngliche Präparat. Die Differenzen sind allerdings gering, doch weisen sie auf einen besonderen chemischen Prozeß hin. Die Bestimmung des Amidstickstoffs bei Diastasepräparaten ergab gerade das umgekehrte Verhältnis, indem die mit Ammoniak behandelten Diastasepräparate mehr Amidstickstoff aufwiesen als die ursprünglichen Diastasepräparate. Demnach muß auch der chemische Prozeß, auf welchen die Verminderung des Amidstickstoffs bei der Invertase hinweist, ein anderer sein, als der Prozeß, welcher durch die Vermehrung des Amidstickstoffs bei Diastasepräparaten angezeigt wird.

### Prüfung der Fermentwirkung.

Von mehreren Versuchen, die dasselbe Resultat gezeigt haben, will ich nur einen anführen:

0,2195 g Invertase hatten aufgenommen 0,0133 g = 6,06% Ammoniak.

Kontrolle: 0,2 g Invertase.

Dauer des Versuches	Kontrolle	Mit Ammoniak behandeltes Invertasepräparat
Beginn . . . . .	8,2	8,4
½ Stunde . . . . .	7,0	6,9
1 . . . . .	5,6	4,8
1¼ Stunden . . . . .	4,6	3,5
2 . . . . .	3,1	2,0

Daran schließe ich noch einen Versuch, zu welchem das ausgepumpte Präparat vom Auspumpversuche I verwendet worden ist.

0,1945 g Invertase hatten aufgenommen 0,0087 g = 4,47% Ammoniak und beim Auspumpen wieder abgegeben.

Kontrolle: 0.2 g Invertase.

Dauer des Versuches	Kontrolle	Mit Ammoniak behandeltes und ausgepumptes Invertasepräparat
Beginn . . . . .	8,5	8,5
1/2 Stunde . . . . .	7,1	7,7
1 . . . . .	5,8	7,0
1 1/2 Stunden . . . . .	4,4	6,0
2 . . . . .	3,1	5,2

Die Versuche, als deren Beispiel der erste angeführt wurde, ergaben, daß durch die Einwirkung von Ammoniak allein keine Schädigung der Fermentwirkung erzeugt worden ist. Es scheint sogar, als ob das mit Ammoniak behandelte Präparat etwas besser wirken würde als das ursprüngliche Präparat.

Dagegen ist in dem Auspumpversuche deutlich eine Schädigung der Fermentwirkung zu erkennen. Es ist klar, daß der chemische Prozeß, welcher die Schädigung der Fermentwirkung hervorgerufen hat, erst während des Auspumpens vor sich gegangen ist, und es liegt nahe, zu vermuten, daß der schädigende chemische Prozeß eine Anhydridbildung ist, zumal da ja auch als Grund für die Vernichtung der Fermentwirkung durch Chlorwasserstoff eine Anhydridbildung erkannt worden ist.

Die Anhydridbildung in dem Auspumpversuche hat die vorausgegangene Ammoniakwirkung zur Bedingung, weil auch das ursprüngliche Präparat wegen seiner Hygroskopizität ständig, d. i. monatelang im Vakuum über Schwefelsäure aufbewahrt worden ist, ohne seine Wirksamkeit einzubüßen. Man darf daher vermuten, daß diese Anhydridbildung die Bildung eines beständigen Säureamids aus Ammoniumsalz ist, und daß demnach zur invertierenden Wirkung freie Carboxylgruppen notwendig sind.

Die Resultate der vorliegenden Untersuchung fasse ich in folgende Sätze zusammen:

1. Bei der Einwirkung von Ammoniakgas gehen die Bestandteile des Invertasepräparates mit Ammoniak außer der Bildung von Ammoniumsalz noch andere chemische Verbindungen ein. Durch diese anderen chemischen Verbindungen