

# Einwirkung von Chlorwasserstoff- und Ammoniakgas auf Diastase.

## V. Mitteilung.

Von

**Theodor Panzer.**

(Der Redaktion zugegangen am 12. April 1913.)

In einem früheren Aufsatz<sup>1)</sup> habe ich über Versuche berichtet, bei welchen trockenes Chlorwasserstoffgas auf trockene Diastasepräparate einwirkte. Bei dieser Behandlung nahmen die Diastasepräparate Chlorwasserstoff auf und verloren ihre Wirksamkeit. Wurde jedoch der aufgenommene Chlorwasserstoff bis zu einem gewissen Grade durch Auspumpen aus dem Präparate entfernt, dann wurde die Fähigkeit der Präparate, diastatisch zu wirken, teilweise wieder hergestellt. Bevor ich diese Auspumpversuche anstellte, habe ich versucht, die chemische Verbindung zwischen Diastase und Chlorwasserstoff, welche, wie ich schließen mußte, die Vernichtung der Fermentwirkung herbeigeführt hat, auf andere Weise zu lösen und damit die Fermentwirkung wieder herzustellen. Dies ist auch gelungen, als Ammoniakgas in großem Überschusse auf die mit Chlorwasserstoffgas behandelten Diastasepräparate einwirkte. Diese Versuche sollen den Gegenstand der folgenden Abhandlung bilden.

Die Methoden, welche verwendet wurden, waren dieselben, welche in den beiden zitierten Aufsätzen genau beschrieben worden sind, so daß es nun noch notwendig erscheint, einige Worte darüber zu verlieren, wie die Einwirkungen von Chlorwasserstoff und Ammoniak miteinander kombiniert wurden.

Die im Vakuum über Schwefelsäure zum konstanten Gewichte getrockneten Diastasepräparate wurden in dem schon beschriebenen Apparate durch 18 Stunden mit Chlorwasserstoffgas behandelt, wobei sie eine etwas dunklere Farbe annahmen. Dann wurde anhaltend Luft über die Präparate geleitet und danach wurden diese gewogen. Sie wurden nun in einen zweiten, analog gebauten Apparat gebracht, in welchem sie durch 18 Stunden der Einwirkung von Ammoniakgas ausgesetzt waren.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 82, S. 276.

Vgl. auch Diese Zeitschrift, Bd. 84, S. 161.

Nach Ablauf dieser Zeit wurde wieder anhaltend Luft übergeleitet und danach gewogen.

Sowie die Präparate mit Ammoniakgas in Berührung kamen, bildeten sie leichte Salmiaknebel, welche sich zum Teile an den Wandungen des Wägegläschens, zum anderen Teile an den Wandungen des Glaskolbens ansetzten, in welchen das Wägegläschen eingestellt war. Da somit ein kleiner Teil des gebildeten Chlorammoniums verloren gegangen war und damit die letzte Wägung kein richtiges Resultat gab, kann auch nicht genau ermittelt werden, wie viel Ammoniak von den Präparaten aufgenommen worden ist. Die Differenz zwischen dem Gewichte nach der Behandlung mit Chlorwasserstoff und dem Gewichte nach der Einwirkung von Ammoniak bildet daher nur sozusagen einen Minimalwert für die aufgenommene Ammoniakmenge.

Trotzdem damit ein wertvoller Vergleichsfaktor ungenau geworden war, habe ich doch der Gleichmäßigkeit der Versuche halber an die beschriebene Behandlung die quantitative Bestimmung der Acidität, des formoltitierbaren Stickstoffs und des Amidstickstoffs angeschlossen.

Die Präparate selbst hatten bei der Behandlung mit Ammoniak wieder eine etwas hellere Farbe angenommen, was wohl auf die Bildung von Salmiak zurückzuführen ist.

Zu den zu beschreibenden Versuchen sind Diastasepräparate verwendet worden, welche schon in den früheren Abhandlungen näher beschrieben und dort als «Diastase II und III» und als «Diastase gereinigt III und IV» bezeichnet worden sind. Ich rekapituliere die dort erhobenen analytischen Daten dieser Präparate in prozentischer Berechnung:

	Stickstoff	Asche	Amidstickstoff	Formoltitierbarer Stickstoff	Acidität in ccm Normallauge für 100 g Substanz
Diastase II . . . . .	4,56	3,69	0,34	0,16	35,7
» III . . . . .	4,44	3,03	0,34	0,20	23,6
» gereinigt III	5,62	3,55	0,40	—	—
» » IV	5,46	3,56	0,43	0,18	32,4

Um Mißverständnissen vorzubeugen, betone ich nochmals, daß bei den nun folgenden prozentischen Berechnungen die angeführten Werte sich immer auf 100 Teile des ursprünglichen Präparates beziehen. Ich lasse nun die Resultate der Versuche folgen.

## Behandlung mit Chlorwasserstoff- und Ammoniakgas.

Bezeichnung des Diastasepräparates	Verwendete Menge des Diastasepräparates g	Aufgenommene Chlorwasserstoffmenge g	Aufgenommene Ammoniakmenge g
II.	1,0273	0,0709	0,0599
	1,0430	0,0718	0,0690
III.	0,4982	0,0424	0,0255
	0,5688	0,0501	0,0408
	0,5421	0,0488	0,0317
Gereinigt IV.	0,4636	0,0543	0,0346
	0,4793	0,0560	0,0325
	0,4653	0,0547	0,0320
	0,5096	0,0623	0,0358
	0,4963	0,0587	0,0398

## In prozentischer Berechnung:

Diastasepräparat	Aufgenommene Chlorwasserstoffmenge %	Aufgenommene Ammoniakmenge %	Der aufgenommenen Chlorwasserstoffmenge äquivalente Ammoniakmenge %	Überschuß an Ammoniak %
II.	6,90	5,83	3,22	2,61
	6,89	6,62	3,22	3,40
III.	8,51	5,12	3,98	1,14
	8,81	7,71	4,12	3,59
	9,00	5,85	4,20	1,65
Gereinigt IV.	11,71	7,46	5,47	1,99
	11,68	6,78	5,46	1,32
	11,54	6,88	5,39	1,49
	12,23	7,03	5,71	1,32
	11,83	8,02	5,53	2,49

Wenn man den Vorgang, welcher sich bei der Einwirkung von Ammoniak auf das mit Chlorwasserstoff behandelte Präparat abspielt, ganz roh betrachtet, so wird man sich vorstellen können, daß zuerst das einwirkende Ammoniak verwendet wird, um den Chlorwasserstoff des Präparates zu Chlorammonium zu binden, und daß erst dann, wenn aller Chlorwasserstoff zu Chlorammonium gebunden ist, das Ammoniak weiter auf das Diastasepräparat einwirkt. In diesem Sinne habe ich bei jedem Versuche die dem Chlorwasserstoffgehalt äquivalente Ammoniakmenge berechnet und diese von jener Ammoniakmenge abgezogen, welche durch die Gewichtszunahme als aufgenommen angezeigt wird. Diese Differenz bedeutet also einen Überschuß von Ammoniak, welcher von den Bestandteilen des Diastasepräparates festgehalten gedacht werden kann. Die so berechneten Zahlen sind in die vorstehende Tabelle eingesetzt worden. Vergleicht man nun die Ammoniaküberschüsse mit jenen Zahlen, welche in der Abhandlung über die Einwirkung von Ammoniak auf Diastase als aufgenommene Ammoniakmenge angeführt worden sind, und bedenkt man, daß die Ammoniakwerte infolge von geringem Salmiakverlust etwas zu niedrig ausgefallen sind, so findet man, daß diese Ammoniaküberschüsse sich ungefähr in denselben Grenzen bewegen, wie die von ursprünglichen Diastasepräparaten aufgenommenen Ammoniakmengen.

Bestimmung der Acidität.

Bezeichnung des Diastase- präparates	Verwendete Menge des Diastase- präparates g	Auf- genommener Chlor- wasserstoff g	Auf- genommenes Ammoniak g	Normalflüssigkeit verbraucht	
				zur Neu- tralisation ccm	z. Formol- titrierung ccm
II.	1,0273	0,0709	0,0599	-- 1,362	3,537
II.	1,0430	0,0718	0,0690	-- 1,427	3,721
Gereinigt IV.	0,4793	0,0560	0,0325	-- 0,261	1,796
IV.	0,4653	0,0547	0,0320	-- 0,212	1,761

Die nächste Tabelle bringt eine prozentische Berechnung in analoger Darstellung, wie sie bei den Versuchen mit Ammoniak gegeben wurde. Selbstverständlich bildet hier die «berechnete Aciditätsabnahme» die Differenz zwischen der aus

der aufgenommenen Ammoniakmenge und der aus der aufgenommenen Chlorwasserstoffmenge berechneten Acidität.

Diastase- präparat	Chlor- wasser- stoff- gehalt %	Am- moniak- gehalt %	Acidität		Aciditäts- abnahme	
			des behandelten Präparates ccm	des ursprüng- lichen Präparates ccm	ge- funden ccm	be- rechnet ccm
II.	6,90	5,83	— 132,6	35,7	168,3	153,1
II.	6,89	6,62	— 136,8	35,7	172,5	199,8
Gereinigt IV.	11,68	6,78	— 54,4	32,4	86,8	78,8
IV.	11,54	6,88	— 45,6	32,4	78,0	87,5

Die Differenzen zwischen der berechneten und der gefundenen Aciditätsabnahme sind nicht groß. Man kann sagen, die berechnete Aciditätsabnahme stimmt mit der gefundenen ungefähr überein. Die berechnete Aciditätszunahme entspricht aber wegen des oben beschriebenen Salmiakverlustes nicht ganz den tatsächlichen Verhältnissen. Sie würde größer ausfallen, wenn kein Salmiak verloren gegangen wäre, und zwar um eine Zahl, welche der verlorenen Salmiakmenge entspricht. Bedenkt man nun, daß das ganze Gewicht des verlorenen Salmiaks dem gefundenen Ammoniakgehalte zugezählt werden müßte und daß das Molekulargewicht des Ammoniaks verhältnismäßig niedrig ist, so ergibt sich, daß ein relativ kleiner Salmiakverlust als verhältnismäßig großes Minus in der berechneten Aciditätsabnahme zum Ausdrucke kommt. Die berechnete Aciditätsabnahme ist demnach tatsächlich nicht unbedeutend größer, als die in die Tabellen eingesetzten Zahlen anzeigen. Dagegen ist der Verlust an Salmiak als einer neutral reagierenden Substanz für die gefundene Aciditätsabnahme ganz ohne Belang. Bedenkt man diesen Umstand, dann wird man sagen müssen, daß tatsächlich die berechnete Aciditätsabnahme nicht unbedeutend größer ist, als die gefundenen. Dasselbe Verhältnis haben die analogen Versuche bei der Einwirkung von Ammoniak allein auf Diastasepräparate ergeben; auch dort war die berechnete Aciditätsabnahme nicht unbedeutend größer als die gefundene. In diesem Punkte zeigen also die Versuche mit

Chlorwasserstoff und Ammoniak keinen auffallenden Unterschied gegenüber den Versuchen mit Ammoniak allein.

Formoltitrierung.

In prozentischer Berechnung:

Diastasepräparat	Formoltitrierbarer Stickstoff		
	bei den mit Chlorwasserstoff und Ammoniak behandelten Präparaten o/o	bei ursprünglichen Präparaten o/o	Zunahme o/o
II.	4,82	0,16	4,66
II.	4,99	0,16	4,83
Gereinigt IV.	5,25	0,18	5,07
„ VI.	5,30	0,18	5,12

Bei den Versuchen, in welchen nur Ammoniak auf Diastasepräparate eingewirkt hatte, hat sich gezeigt, daß dort die Zunahme an formoltitrierbarem Stickstoff der Aciditätsabnahme äquivalent war, während die Gewichtszunahme (Ammoniakgehalt) größer war, als einem äquivalenten Verhältnisse entspricht.

Es scheint mir nun von Interesse zu sehen, ob auch in den vorliegenden Versuchen ähnliche Verhältnisse vorliegen. Allerdings wird die Betrachtung hier komplizierter, und darum will ich das dreigliedrige Verhältnis in drei zweigliedrige auflösen:

1. Über das Verhältnis zwischen Gewichtszunahme und Aciditätsabnahme geben die früher angestellten Betrachtungen über gefundene und berechnete Aciditätsabnahme genügend Aufschluß.

2. Wenn hier Gewichtszunahme und Zunahme an formoltitrierbarem Stickstoff in ein Verhältnis gebracht werden sollen, so muß diejenige Gewichtszunahme in Rechnung gestellt werden, welche auf die aufgenommene Ammoniakmenge bezogen wird. Ich berechne daher die Stickstoffmenge, welche der aufgenommenen Ammoniakmenge äquivalent ist, und stelle dieser der beobachteten Zunahme an formoltitrierbarem Stickstoff gegenüber:

Diastase- präparat	Ammoniak- gehalt %	Dem Ammoniakgehalte entsprechende Stickstoffmenge %	Beobachtete Zunahme an formoltitrierbarem Stickstoff %
II.	5,83	4,80	4,66
II.	6,62	5,44	4,83
Gercinigt IV.	6,78	5,58	5,07
„ IV.	6,88	5,66	5,12

Die dem Ammoniakgehalte entsprechende Stickstoffmenge ist durchwegs größer als die beobachtete Zunahme an formoltitrierbarem Stickstoff. Die Gewichtszunahme ist demnach größer als einem äquivalenten Verhältnisse zum formoltitrierbaren Stickstoff entsprechen würde. Zieht man nun aber noch die ihrer Größe nach allerdings unbekanntem Salmiakverluste mit in Rechnung, so ist, da der Ammoniakgehalt tatsächlich größer, wäre, als die Zahlen angeben, auch die dem Ammoniakgehalte entsprechende Stickstoffmenge erheblich zu klein angegeben. Aber auch auf die Menge des formoltitrierbaren Stickstoffs sind die Salmiakverluste von Einfluß. Der diesbezügliche Fehler, welcher bei der Formoltitrierung gemacht worden ist, beträgt die Stickstoffmenge, bzw., wenn man mit Ammoniak rechnet, die Ammoniakmenge, welche in dem verlorenen Salmiak enthalten war. Während, wie schon früher erörtert worden ist, der bei der Gewichtszunahme gemachte Fehler dem Gewichte des verlorenen Salmiaks gleich zu setzen ist, ist der Fehler bei der Formoltitrierung dem Gewichte des verlorenen Salmiaks nur äquivalent. Die beiden Fehler verhalten sich demnach wie die Molekulargewichte von Salmiak und Ammoniak, also wie 53,7 : 17. Der Fehler bei der Gewichtszunahme ist rund dreimal so groß als bei der Formoltitrierung. Dadurch werden aber die Differenzen zwischen den beiden letzten Stäben der vorstehenden Tabelle noch größer. Sie nähern sich ungefähr jenen Verhältnissen, welche in den Versuchen beobachtet worden sind, bei denen nur Ammoniak auf die Diastasepräparate eingewirkt hat. So stimmen denn auch in diesem Punkte die Resultate der Chlorwasserstoff-Ammoniak-Versuche mit denen der Ammoniakversuche ungefähr überein.

3. Wenn endlich die Zunahme an formoltitrierbarem Stickstoff mit der Aciditätsabnahme verglichen werden soll, so darf natürlich der Anteil des formoltitrierbaren Stickstoffs, welcher dem in den Versuchen gebildeten Salmiak entspricht, nicht in Rechnung gezogen werden, weil dieser Salmiak auch nicht in der Aciditätsabnahme zum Ausdruck kommt. Ein ziemlich genaues, vielleicht, wie später zu beschreibende Versuche gezeigt haben, nur um eine Kleinigkeit zu großes Maß für den gebildeten Salmiak läßt sich aus der aufgenommenen Chlorwasserstoffmenge berechnen. Ich berechne also die dem Chlorwasserstoffgehalte äquivalente Stickstoffmenge (b), ziehe diese von der Zunahme an formoltitrierbarem Stickstoff (a) ab und rechne diese Differenz (a—b) auf Kubikzentimeter Normalsäure um, damit sie mit der Aciditätsmenge verglichen werden könne.

Diastase- präparat	a = Zu- nahme an formol- titrier- barem Stickstoff %	b = dem Chlorwasser- stoffgehalte äquivalente Stickstoff- menge %	Differenz a—b %	Differenz a—b in ccm Normalsäure ausgedrückt	Gefundene Aciditäts- abnahme ccm
II.	4,66	2,65	2,01	143,5	168,3
II.	4,83	2,65	2,18	155,6	172,5
Gereinigt IV.	5,07	4,49	0,58	41,4	86,8
IV.	5,12	4,43	0,69	49,3	78,0

Die Differenz a—b in Kubikzentimeter Normalsäure ausgedrückt ist allerdings etwas kleiner als die Aciditätsabnahme. Berücksichtigt man aber die Kleinigkeit, um welche b zu groß geraten ist, und den etwas größeren Fehler des Salmiakverlustes, um welchen a zu klein ist, dann mag wohl die Differenz a—b der Aciditätsabnahme äquivalent erscheinen und es ergibt sich auch in diesem Punkte kein auffallender Unterschied der Chloroform-Ammoniakversuche gegenüber den Ammoniakversuchen.

#### Bestimmung des Amidstickstoffs.

Nachdem die Behandlung mit Magnesiumhydroxyd eingeschaltet worden war, wurden folgende Resultate erhalten:

Bezeichnung des Diastasepräparates	Verwendete Menge des Diastasepräparates g	Chlorwasserstoffgehalt g	Ammoniakgehalt g	Stickstoff ccm	Temperatur ° C.	Barometerstand mm
III.	0,4982	0,0424	0,0255	6,8	17,4	748,0
III.	0,5421	0,0488	0,0317	6,5	17,5	742,0
Gereinigt IV.	0,4963	0,0587	0,0398	5,8	18,2	747,3
• IV.	0,4636	0,0543	0,0346	5,2	19,3	740,5

In Prozenten:

Diastasepräparat	Chlorwasserstoffgehalt %	Ammoniakgehalt %	Amidstickstoff	
			bei behandelten Präparaten %	bei ursprünglichen Präparaten %
III.	8,51	5,12	0,78	0,34
III.	9,00	5,85	0,68	0,34
Gereinigt IV.	11,83	8,02	0,67	0,43
• IV.	11,71	7,46	0,63	0,43

Die mit Chlorwasserstoff und Ammoniak behandelten Präparate lieferten etwas mehr Amidstickstoff als die ursprünglichen Präparate. Auch in diesem Punkte gleichen also diese Versuche den Ammoniakversuchen.

Es konnte demnach abgesehen von der Bildung von Chlorammonium in der Einwirkung von Ammoniak kein erheblicher Unterschied gefunden werden zwischen den Versuchen, in welchen nur Ammoniak auf Diastasepräparate eingewirkt hat, und jenen Versuchen, in welchen Chlorwasserstoff und erst dann Ammoniak auf diese Präparate einwirken konnte. Ich hebe diese Tatsache hervor, weil die vorangegangene Einwirkung von Chlorwasserstoff eine wesentliche Änderung der Versuchsbedingungen bedeutet und weil dadurch das bei den Ammoniakversuchen konstatierte Verhältnis zwischen Gewichtszunahme, Aciditätszunahme und Zunahme an formoltitierbarem Stickstoff nicht mehr als Zufall erscheinen kann.

#### Prüfung der Fermentwirkung.

Bei der Prüfung der Wirksamkeit der mit Chlorwasserstoff und Ammoniak behandelten Diastasepräparate wurde in der Regel nebst dem unveränderten Diastasepräparate gleich-

zeitig ein mit Chlorwasserstoff allein behandeltes Diastasepräparat zur Kontrolle herangezogen. Von mehreren Versuchen mit gleichem Resultate seien nur einige angeführt.

## I.

0,2 g Diastase gereinigt III mit Chlorwasserstoff und darnach mit Ammoniak behandelt.

Kontrolle: 0,2 g Diastase gereinigt III.

Stärkelösung: 5 g lösliche Stärke (Merck): 500 ccm Wasser (in dem Versuchsgemisch demnach 0,5%ig).

Dauer des Versuches	Kontrolle			Mit Chlorwasserstoff und Ammoniak behandeltes Ferment		
	Jodlösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet	Jodlösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet
Beginn . . .	blau	2,7	0	blau	3,6	0
1/2 Stunde .	»	16,3	13,6	»	4,6	1,0
1 » .	»	17,2	14,5	»	5,5	1,9
1 1/2 Stunden	»	18,0	15,3	»	5,6	2,0
2 »	schwach blau	17,6	14,9	»	5,7	2,1
Reduziert Fehling		stark			wenig	

## II.

0,2 g Diastase gereinigt III. mit Chlorwasserstoff und darnach mit Ammoniak behandelt.

Kontrolle I: 0,2 g Diastase gereinigt III.

Kontrolle II: 0,2 g Diastase gereinigt III mit Chlorwasserstoff behandelt.

Stärkelösung: 2 g lösliche Stärke (Merck): 500 ccm Wasser (in dem Versuchsgemisch demnach 0,2%ig).

Dauer des Versuches	Kontrolle I: ursprüngliches Ferment			Kontrolle II: mit Chlorwasserstoff behandeltes Ferment			Mit Chlorwasserstoff und Ammoniak behandeltes Ferment		
	Jodlösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet	Jodlösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet	Jodlösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet
Beginn .	blau	2,9	0	blau	2,7	0	blau	2,4	0
1/2 Std. .	schwach blau	4,9	2,0	»	2,6	0	»	3,1	0,7
1 » .	desgl.	5,5	2,6	»	2,5	0	»	3,6	1,2
1 1/2 » .	0	6,1	3,2	»	2,5	0	»	4,1	1,7
2 » .	0	6,6	3,7	»	2,5	0	»	4,8	2,4
Reduziert Fehling		stark			0			mäßig	

## III.

1 g Diastase II mit Chlorwasserstoff und darnach mit Ammoniak behandelt.

Kontrolle II: 1 g Diastase II.

Kontrolle II: 1 g Diastase II mit Chlorwasserstoff behandelt.

Stärkelösung: 2 g lösliche Stärke (Kahlbaum): 50 ccm Wasser (in dem Versuchsgemisch demnach 0,2%ig).

Dauer des Versuches	Kontrolle I: ursprüngliches Ferment			Kontrolle II: mit Chlorwasserstoff behandeltes Ferment			Mit Chlorwasserstoff und Ammoniak behandeltes Ferment		
	Jodlösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet	Jodlösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet	Jodlösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet
Beginn .	blau	14,2	0	blau	14,3	0	blau	13,8	0
1/2 Std. .	0	20,3	6,1	»	13,2	0	0	19,4	5,6
1 » .	0	21,2	7,0	»	13,5	0	0	21,2	7,4
1 1/2 » .	0	22,0	7,8	»	13,5	0	0	21,9	8,1
1 » .	0	22,3	8,1	»	13,5	0	0	23,7	9,9
Reduziert Fehling	sehr stark			mäßig <sup>1)</sup>			sehr stark		

Die diastatische Wirksamkeit der Fermentpräparate, welche durch die Behandlung der Präparate mit Chlorwasserstoff aufgehoben worden ist, kehrt demnach durch die darauffolgende Behandlung mit Ammoniak wieder zurück. Bei den milchzuckerhaltigen Präparaten (Diastase II) kehrt dadurch die Wirksamkeit vollständig wieder, bei den durch Alkoholfällung gereinigten Präparaten (Diastase gereinigt III) aber nur bis zu einem gewissen Grade. Bei den letzteren bleibt nach der Behandlung mit Chlorwasserstoff und Ammoniak eine Schädigung der Fermentwirkung im Vergleiche zu den ursprünglichen Präparaten zurück. Es ergibt sich daraus die Frage, ob diese Schädigung nicht vielleicht durch das gebildete Chlorammonium verursacht ist. Die Antwort darauf geben die folgenden Versuche, in welchen die Fermentwirkung eines Diastasepräparates ohne Zusatz verglichen wird mit der Fermentwirkung desselben Diastasepräparates, dessen Lösung Salmiak zugesetzt worden ist. Die zugefügten Salmiakmengen waren größer als jene

<sup>1)</sup> Ungefähr entsprechend dem Milchzuckergehalte des Präparates.

Salmiakmengen, welche sich in den früheren Versuchen durch Einwirkung von Chlorwasserstoff und Ammoniak gebildet haben konnten.

## I.

1 g Diastase II + 20 ccm Zehntel-Normal-Salmiaklösung (entsprechend 0,107 g Salmiak = 0,073 g Chlorwasserstoff, entsprechend 7,3% vom Diastasepräparat aufgenommenem Chlorwasserstoff).

Kontrolle: 1 g Diastase II.

Stärkelösung: 2 g löslich Stärke (Merck): 400 ccm Wasser.

Dauer des Versuches	Kontrolle			Mit Salmiak versetztes Ferment		
	Jod- lösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet	Jod- lösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet
Beginn . . .	blau	14,6	0	blau	16,5	0
1/2 Stunde .	schwach blau	20,6	6,0	schwach blau	20,8	4,3
1 „ .	0	20,7	6,1	0	21,2	4,7
1 1/2 Stunden	0	20,8	6,2	0	21,9	5,4
2 „ .	0	21,1	6,5	0	22,2	5,7
Reduziert Fehling		sehr stark			sehr stark	

## II.

0,2 g Diastase gereinigt III + 20 ccm Zehntel-Normal-Salmiaklösung (entsprechend 0,107 g Salmiak = 0,073 g Chlorwasserstoff, entsprechend 36,5% durch das Diastasepräparat aufgenommenem Chlorwasserstoff).

Kontrolle: 0,2 g Diastase gereinigt III.

Stärkelösung: 2 g lösliche Stärke (Merck): 500 ccm Wasser.

Dauer des Versuches	Kontrolle			Mit Salmiak versetztes Ferment		
	Jod- lösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet	Jod- lösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet
Beginn . . . . .	blau	1,9	0	blau	2,5	0
1/2 Stunde . . . .	„	7,4	5,5	„	7,1	4,6
1 „ . . . .	„	7,7	5,8	„	8,9	6,4
1 1/2 Stunden . . .	„	8,2	6,3	„	8,9	6,4
2 „ . . . .	0	8,1	6,2	0	9,2	6,7
Reduziert Fehling		stark			stark	

Eine geringfügige Hemmung der Fermentwirkung durch die Gegenwart von Salmiak ist namentlich in der ersten halben Stunde nicht zu verkennen, sie ist aber kaum von Belang, jedenfalls kann sie den starken Ausfall der Fermentwirkung, welcher bei der Einwirkung von Chlorwasserstoff und Ammoniak auf die durch Alkoholfällung gereinigten Diastasepräparate beobachtet worden ist, nicht erklären.

Eine weitere Fragestellung ergibt sich aus folgender Überlegung:

Diastasepräparate wurden trocken mit Chlorwasserstoff behandelt, dann in wässriger Lösung mit Natronlauge neutralisiert und waren unwirksam.

Diastasepräparate wurden trocken mit Chlorwasserstoff; dann trocken mit Ammoniak behandelt und waren wirksam.

Besitzt vielleicht gerade das Ammoniak die Fähigkeit, die Wirksamkeit wieder hervorzurufen, während diese Fähigkeit dem Natriumhydroxyd abgeht?

Zur Beantwortung dieser Frage wurden Versuche ganz konform mit den bisherigen Chlorwasserstoffversuchen angestellt, nur wurde zur Neutralisation der wässrigen Lösung Zehntel-Normal-Ammoniak statt Zehntel-Normal-Natronlauge verwendet.

## I.

1 g Diastase II mit Chlorwasserstoffgas behandelt, mit wässrigem Ammoniak neutralisiert.

Kontrolle: 1 g Diastase II.

Stärkelösung: 2 g lösliche Stärke (Kahlbaum): 500,0 ccm Wasser.

Dauer des Versuches	Kontrolle			Mit Chlorwasserstoff behandeltes und mit wässrigem Ammoniak neutralisiertes Ferment		
	Jod- lösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet	Jod- lösung	Reduktion in mg. Zucker	mg Zucker gebildet
Beginn . . . . .	blau	17,1	0	blau	16,5	0
1/2 Stunde . . . .	0	23,5	6,4	„	17,6	1,1
1 „ . . . . .	0	24,6	7,5	„	18,8	2,3
1 1/2 Stunden . . .	0	25,1	8,0	„	19,9	3,4
2 „ . . . . .	0	25,2	8,1	„	21,8	5,3
Reduziert Fehling		sehr stark			mäßig	

## II.

0,2 g Diastase gereinigt IV, mit Chlorwasserstoffgas behandelt, mit wässrigem Ammoniak neutralisiert.

Kontrolle: 0,2 g Diastase gereinigt IV.

Stärkelösung: 2 g lösliche Stärke (Kahlbaum): 500 ccm Wasser.

Dauer des Versuches	Kontrolle			Mit Chlorwasserstoff behandeltes und mit wässrigem Ammoniak neutralisiertes Ferment		
	Jod- lösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet	Jod- lösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet
Beginn . . . . .	blau	3,8	0	blau	4,3	0
1/2 Stunde . . . . .	0	10,3	6,5	„	4,4	0,1
1 „ . . . . .	0	10,3	6,5	„	4,7	0,4
1 1/2 Stunden . . . . .	0	10,6	6,8	„	4,8	0,5
2 „ . . . . .	0	10,3	6,5	„	5,4	1,1
Reduziert Fehling		stark			nicht	

Mit voller Sicherheit läßt sich eine Wiederherstellung der Fermentwirkung durch wässriges Ammoniak durch die beiden angeführten Versuche nicht beweisen. Die Bangsche Zuckertitration zeigt zwar eine Bildung von Zucker an und zwar in dem ersten Versuche eine nennenswerte, in dem zweiten nur eine minimale. Die Resultate dieser Titrierung konnten aber durch die qualitative Fehlingsche Reaktion nicht bestätigt werden. Zudem konnte die Stärke in keinem der beiden Versuche zum Verschwinden gebracht werden. Wenn aber die Resultate der Titrierung wirklich auf Zuckerbildung zu deuten sind, dann kann man wohl sagen, daß durch wässriges Ammoniak nur ein geringerer Grad von Wirksamkeit wiederhergestellt wurde als durch Ammoniakgas.

In einer früheren Abhandlung wurde aus anderen Tatsachen erschlossen, daß das Unwirksamwerden der Diastase durch Behandlung mit Chlorwasserstoff auf einer chemischen Verbindung beruht, welche eine für die Fermentwirkung notwendige Atomgruppe der Diastase mit Chlorwasserstoff eingeht. Diese chemische Verbindung ist aber kein Salz und die sie eingehende Atomgruppe keine basische Atomgruppe. Durch

die vorstehend beschriebenen Versuche über die Wiederherstellung der Fermentwirkung wird zwar die Kenntnis dieser Atomgruppe nicht wesentlich erweitert, aber die bisher gezogenen Schlüsse finden in diesen Versuchen eine weitere Stütze.

Die chemische Verbindung zwischen Diastase und Chlorwasserstoff kann, wie diese Versuche beweisen, zweifellos durch Einwirkung von Ammoniakgas wiederhergestellt werden, indem das Ammoniak den an die fragliche Atomgruppe gebundenen Chlorwasserstoff zu Chlorammonium bindet und damit diese Atomgruppe wiederherstellt. Hätte diese Atomgruppe basische Eigenschaften und wäre ihre Verbindung mit Chlorwasserstoff ein Salz, dann würde die Freimachung der Atomgruppe prompt erfolgen, es würde die Diastase leicht wieder auf ihre ursprüngliche Wirksamkeit gebracht werden können. Dieselbe Reaktion müßte auch durch wässriges Ammoniak in gleichem Umfange durchgeführt werden können. So aber wird durch Ammoniakgas nur ein Teil der Wirksamkeit wieder hergestellt und durch wässriges Ammoniak, wenn überhaupt, so nur ein geringer Bruchteil. Das heißt: die Verbindung der Atomgruppe mit Chlorwasserstoff kann nur schwer durch Ammoniak zerlegt werden, es ist offenbar für die Zerlegung der große Überschuß von Ammoniak, vielleicht auch die Abwesenheit von Wasser maßgebend. Im praktischen Versuche aber bleibt ein Teil der gewissen Atomgruppen mit Chlorwasserstoff verbunden, so daß der ursprüngliche Grad der Wirksamkeit nicht wiederkehrt.

---