

Einwirkung von Chlorwasserstoff- und Ammoniakgas auf Invertase.

VI. Mitteilung.

Von

Theodor Panzer.

(Der Redaktion zugegangen am 17. April 1913.)

Als Gegenstück zu den Versuchen über Einwirkung von Chlorwasserstoff- und Ammoniakgas auf Diastase¹⁾ habe ich in ganz analoger Weise und mit genau denselben Methoden Versuche mit Invertase angestellt.

Das verwendete Invertasepräparat enthielt:²⁾

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

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

Die im folgenden aufgestellten prozentischen Berechnungen beziehen sich alle auf 100 Teile unverändertes Fermentpräparat.

Behandlung mit Chlorwasserstoff- und Ammoniakgas.

In Grammen:

Verwendete Menge des Invertasepräparates g	Aufgenommene Chlorwasserstoffmenge g	Aufgenommene Ammoniakmenge g
0,2000	0,0478	0,0310
0,4911	0,1078	0,0678
0,5016	0,1059	0,0733
0,5326	0,0906	0,0493
0,4960	0,1126	0,0909

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 85, S. 97.

²⁾ siehe diese Zeitschrift, Bd. 82, S. 377.

In prozentischer Berechnung:

Aufgenommene Chlorwasserstoffmenge %	Aufgenommene Ammoniakmenge %	Der aufgenommenen Chlorwasserstoffmenge äquivalente Ammoniakmenge %	Überschuß an Ammoniak %
23,90	15,50	11,16	4,34
21,95	13,81	10,25	3,56
21,11	14,61	9,86	4,75
17,01	9,26	7,95	1,31
22,70	18,33	10,60	7,73

Die Ammoniaküberschüsse bewegen sich ungefähr in jenen Größen, welche bei den Versuchen über die Einwirkung von Ammoniak auf Invertase¹⁾ an Ammoniak aufgenommen worden sind. Nur der letzte Wert schlägt erheblich aus der Reihe.

Bestimmung der Acidität.

Verwendete Menge des Invertasepräparates g	Aufgenommener Chlorwasserstoff g	Aufgenommenes Ammoniak g	Normalflüssigkeit verbraucht	
			zur Neutralisation ccm	zur Formoltitrierung ccm
0,5326	0,0906	0,0493	+ 0,304	3,846
0,4960	0,1126	0,0909	- 1,013	3,391

In prozentischer Berechnung:

Chlorwasserstoffgehalt %	Ammoniakgehalt %	Acidität		Aciditätsabnahme	
		des behandelten Präparates ccm	des ursprünglichen Präparates ccm	gefunden ccm	berechnet ccm
17,01	9,26	+ 57,1	160,2	103,1	77,3
22,70	18,33	- 204,2	160,2	364,4	453,6

Die berechnete Aciditätsabnahme ist wegen des Salmiakverlustes, welcher bei der Einwirkung von Ammoniak erlitten worden ist, zu klein ausgefallen. Sie mag daher im ersten Versuche ungefähr ebenso groß wie die gefundene sein, vielleicht aber auch etwas größer oder etwas kleiner. Im zweiten

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 84, S. 408.

Versuche ist die berechnete Aciditätsabnahme sicher größer als die gefundene.

Formoltitrierung.

In prozentischer Berechnung:

Formoltitrierbarer Stickstoff		
bei den mit Chlorwasserstoff und Ammoniak behandelten Präparaten %	bei ursprünglichen Präparaten %	Zunahme %
8,24	3,17	5,07
9,58	3,17	6,41

Um die Zunahme an formoltitrierbarem Stickstoff mit der Gewichtszunahme vergleichen zu können, betrachte ich die letztere wieder als Ammoniak und berechne die diesem Ammoniak äquivalente Stickstoffmenge.

Ammoniakgehalt %	Dem Ammoniakgehalt äquivalente Stickstoffmenge %	Beobachtete Zunahme an formoltitrierbarem Stickstoff %
9,26	7,61	5,07
18,33	15,08	6,41

Die Gewichtszunahme ist in beiden Versuchen erheblich größer, als dem äquivalenten Verhältnisse zur Zunahme an formoltitrierbarem Stickstoff entspricht. Sie wird noch um so größer, weil das Verhältnis durch den Salmiakverlust etwas zu klein geraten ist.

Soll endlich die Zunahme an formoltitrierbarem Stickstoff noch verglichen werden mit der Aciditätsabnahme, so darf auch hier nur derjenige Anteil der Zunahme an formoltitrierbarem Stickstoff in Rechnung gezogen werden, welcher nicht in dem aus Chlorwasserstoff und Ammoniak entstandenen Salmiak enthalten ist, d. h. es muß von der Zunahme an formoltitrierbarem Stickstoff (a) die dem Salmiak-, bzw. Chlorwasserstoffgehalte äquivalente Stickstoffmenge (b) abgezogen und diese Differenz (a—b) mit der Aciditätsabnahme verglichen werden.

a = Zunahme an formoltitrierbarem Stickstoff %	b = dem Chlorwasserstoffgehalte äquivalente Stickstoffmenge %
5,07	6,54
6,41	8,72

Die Zunahme an formoltitrierbarem Stickstoff (a) ist kleiner als die dem Chlorwasserstoffgehalte äquivalente Stickstoffmenge (b). Die Differenz (a—b) wird daher negativ ausfallen und dadurch sicher kleiner sein als die eine positive Zahl bedeutende Aciditätsabnahme.

Es fragt sich nur noch, wie es kommen kann, daß die Zunahme an formoltitrierbarem Stickstoff kleiner ist, als dem gebildeten Chlorammonium entspricht. Das hat einfach darin seinen Grund, daß noch ein zweiter chemischer Prozeß nebenher läuft, welcher eine Abnahme des formoltitrierbaren Stickstoffs bewirkt. Diesen Prozeß kennen wir bereits, er ist die Anhydridbildung, welche durch die Einwirkung von Chlorwasserstoffgas auf Invertase verursacht wird.

In den Versuchen, in welchen nur Ammoniakgas auf Invertasepräparate zur Einwirkung kam, wurde, wenn äquivalente Verhältnisse in Betracht gezogen wurden, beobachtet, daß die Gewichtszunahme nur um wenig größer ist als die Aciditätsabnahme, während die Aciditätsabnahme beträchtlich größer ist als die Zunahme an formoltitrierbarem Stickstoff. Ich möchte dieses Verhältnis durch folgendes Schema ausdrücken:

$$\text{Gew.} > \text{Acid.} > \text{Form.}$$

In analoger Darstellung würden die bei den Chlorwasserstoff-Ammoniak-Versuchen gemachten Beobachtungen folgendermaßen auszudrücken sein:

$$\begin{aligned} \text{Gew.} &\geq \text{Acid.} \\ \text{Gew.} &> \text{Form.} \\ \text{Acid.} &> \text{Form.} \end{aligned}$$

Es ergeben sich wohl Unterschiede gegenüber den Ammoniakversuchen. Diese Unterschiede sind zweifellos auf die durch Chlorwasserstoffeinwirkung verursachte Anhydridbildung zurückzuführen. Sieht man aber von dieser Anhydridbildung

und von der Salmiakbildung ab, dann findet man keine tiefgreifenden Unterschiede in der Ammoniakwirkung zwischen den Ammoniak-Versuchen und den Chlorwasserstoff-Ammoniak-Versuchen. Das Ammoniak wird demnach hier keine wesentlich anderen chemischen Prozesse verursacht haben wie dort, ein Befund, welcher sich mit dem in analogen Versuchen an Diastasepräparaten erhobenen im wesentlichen deckt.

Bestimmung des Amidstickstoffs.

Auch hier ging der Bestimmung des Amidstickstoffs die Behandlung mit Magnesiumhydroxyd voran, so daß das Ammoniak für die beobachteten Zahlen nicht in Betracht kam.

Verwendete Menge des Invertasepräparates g	Chlorwasserstoffgehalt g	Ammoniakgehalt g	Stickstoff ccm	Temperatur ° C.	Barometerstand mm
0.4911	0,1078	0,0678	15,7	21,3	742,5
0.5016	0,1059	0,0733	15,3	19,9	740,9

In prozentischer Berechnung:

Chlorwasserstoffgehalt %	Ammoniakgehalt %	Amidstickstoff	
		bei behandelten Präparaten %	bei dem ursprünglichen Präparate %
21,95	13,81	1,77	2,30
21,11	14,61	1,70	2,30

Wie in den Chlorwasserstoffversuchen und in den Ammoniakversuchen ist auch hier der Gehalt an Amidstickstoff kleiner als bei dem ursprünglichen Präparate. Diese Differenz, die von allen Versuchen hier am größten ist, muß zweifellos auf Anhydridbildung zurückgeführt werden.

Prüfung der Fermentwirkung.¹⁾

Als Beispiel sei nur das Protokoll eines Versuches angeführt.

0,2000 g Invertase nahmen auf 0,0478 g = 23,90% Chlorwasserstoff und 0,0310 g = 15,50% Ammoniak.

Kontrolle: 0,2 g Invertase.

¹⁾ Über Ausführung der Versuche und Darstellung der Resultate vgl. diese Zeitschrift, Bd. 82, S. 386.

Dauer des Versuches	Kontrolle	Mit Chlorwasserstoff und Ammoniak behandeltes Präparat
Beginn	8,1	8,2
1/2 Stunde	6,7	8,1
1 "	5,2	8,2
1 1/2 Stunden	3,9	8,1
2 "	2,7	8,1

Bei der Invertase kehrt demnach die Fermentwirkung, welche durch die Behandlung mit Chlorwasserstoff aufgehoben war, bei der Ammoniakbehandlung nicht wieder.

In einer früheren Publikation wurde die Vermutung geäußert, daß bei der Invertase die Vernichtung der Fermentwirkung durch Chlorwasserstoff nicht darauf beruhe, daß eine für die Fermentwirkung notwendige Atomgruppe der Invertase sich mit Chlorwasserstoff chemisch verbunden hat, sondern ihren Grund in der auf anderem Wege nachgewiesenen Anhydridbildung habe.

Diese Vermutung gewinnt nun durch die zuletzt angeführten Versuche eine weitere Stütze.

Beruhet nämlich die Vernichtung der Fermentwirkung auf einer chemischen Verbindung einer für die Fermentwirkung notwendigen Atomgruppe mit Chlorwasserstoff, dann kann sie unter Umständen durch Ammoniakwirkung wiederhergestellt werden. Dies war bei der Diastase der Fall, bei der Invertase aber nicht.

Beruhet sie aber auf einer Anhydridbildung, dann kann diese Anhydridbildung, wie dies in dem angestellten Versuchen der Fall war, durch die Einwirkung von Ammoniak höchstens gesteigert, nicht aber rückgängig gemacht werden, die Fermentwirkung kann daher nicht wiederkehren.