

Einwirkung von Ammoniakgas auf eine durch Erhitzen unwirksam gewordene Diastase.

X. Mitteilung.

Von

Theodor Panzer.

Der Redaktion zugegangen am 24. Juni 1913.

Im Anschlusse an die letzte Mitteilung dieser Aufsatzreihe¹⁾ berichte ich über Versuche, in welchen trockenes Ammoniakgas auf ein Diastasepräparat eingewirkt hatte, das durch Erhitzen unwirksam gemacht worden war. Das erhitzte Diastasepräparat, welches zu diesen Versuchen diente, ist schon in der letzten Mitteilung unter der Bezeichnung «Diastase gekocht III» beschrieben worden. Ich wiederhole hier noch die dort für dieses Präparat erhobenen analytischen Daten.

Das Präparat erhielt in Prozenten:

Stickstoff	4,95
Asche	5,41
Amidstickstoff	0,44
Formoltitrierbarer Stickstoff	0,22
Acidität in Kubikzentimeter Normallauge für 100 g Substanz	18,5

Bezüglich der Details der Versuche und der Berechnungen verweise ich auf die Versuche, welche mit wirksamen Diastasepräparaten angestellt worden sind, und beschränke mich hier nur auf die Anführung der Resultate.

Behandlung mit Ammoniak.

Die Resultate folgen in tabellarischer Form.

Verwendete Menge des Diastasepräparates g	Aufgenommene Chlorwasserstoffmenge g	In Prozenten
0,1832	0,0063	3,44
0,4921	0,0106	2,16
0,5349	0,0132	2,47
0,2074	0,0064	3,09
0,4727	0,0107	2,26
0,4947	0,0104	2,10
0,4887	0,0108	2,21
0,5214	0,0097	1,86

¹⁾ Diese Zeitschrift. Bd. 86, S. 322.

Daran schlieÙe ich die Resultate der Auspumpversuche:
In Gewichten (Grammen).

	I.	II.	III.
Verwendete Menge des Diastasepräparates .	0,1832	0,4921	0,5349
Aufgenommene Ammoniakmenge	0,0063	0,0106	0,0132
Das Präparat enthielt noch Ammoniak:			
am 1. Tage	0,0016	0,0040	—
» 2. »	0,0004	—	0,0002
» 3. »	0	0,0004	—
» 4. »	0	—	0
» 5. »	0	0	0
Konstantes Gewicht des Präparates am Ende des Versuches	0,1830	0,4912	0,5325

In Prozenten.

	I.	II.	III.
Aufgenommenes Ammoniak	3,44	2,16	2,47
Das Präparat enthielt noch Ammoniak:			
am 1. Tage	0,87	0,82	—
» 2. »	0,22	—	0,04
» 3. »	0	0,08	—
» 4. »	0	0	0
» 5. »	0	0	0

Die angeführten Zahlen sind ganz analog denen, welche bei den Versuchen mit wirksamen Diastasepräparaten gefunden worden sind.

Bestimmung der Acidität.

Verwendete Menge des Diastasepräparates g	Ammoniak- gehalt g	Normalflüssigkeit verbraucht	
		zur Neutralisation ccm	zur Formoltitrierung ccm
0,4727	0,0107	— 0,232	0,419
0,4947	0,0104	— 0,293	0,520
Auspumpversuche.			
0,4921	0	— 0,012	0,195
0,5349	0	— 0,012	0,195

Zu den beiden letzten Versuchen diente das Material der Auspumpversuche II und III.

Die folgende prozentische Berechnung vergleicht die gefundene Abnahme der Acidität, ausgedrückt in Kubikzentimeter Normalflüssigkeit für 100 g Substanz mit der aus der Gewichtszunahme (als aufgenommenes Ammoniak betrachtet) berechneten:

Ammoniak- gehalt %	Acidität		Aciditätsabnahme	
	des behandelten Präparates ccm	des ursprünglichen Präparates ccm	gefunden ccm	berechnet ccm
2,26	— 49,1	18,5	67,6	132,7
2,10	— 59,2	18,5	77,7	123,3
Auspumpversuche.				
0	— 2,4	18,5	20,9	0
0	— 2,3	18,5	20,8	0

Formoltitrierung.

Formoltitrierbarer Stickstoff		
bei mit Ammoniak behandelten Präparaten %	bei dem ursprünglichen Präparate %	Zunahme %
1,24	0,22	1,02
1,47	0,22	1,25
Auspumpversuche.		
0,56	0,22	0,34
0,51	0,22	0,29

Um vergleichen zu können, inwiefern Gewichtszunahme, Aciditätsabnahme und Zunahme an formoltitierbarem Stickstoff einander äquivalent sind, stellte ich die folgenden Berechnungen an.

1	2	3	4	5
Gewichtszunahme	Der Gewichtszunahme äquivalente Stickstoffmenge	Aciditätsabnahme	Der Aciditätsabnahme äquivalente Stickstoffmenge	Zunahme an formoltitierbarem Stickstoff
%	%	ccm	%	%
2,26	1,86	67,6	0,95	1,02
2,10	1,73	77,7	1,08	1,25
Auspumpversuche.				
0	0	20,9	0,29	0,34
0	0	20,8	0,29	0,29

Es zeigt auch in dieser Beziehung das gekochte Diastasepräparat genau dasselbe Verhalten wie die nicht erhitzten wirksamen Diastasepräparate: die Aciditätszunahme ist innerhalb der Grenzen der unvermeidlichen Versuchsfehler der Zunahme an formoltitierbarem Stickstoff äquivalent, die Gewichtszunahme hingegen ist bei den Versuchen ohne Auspumpen erheblich größer, als dem äquivalenten Verhältnisse entspricht, bei den Auspumpversuchen nahezu Null.

Aus den Versuchen mit wirksamen Diastasepräparaten wurde geschlossen, daß die Einwirkung von Ammoniakgas, soweit sie nicht durch Neutralisation mit Säure wieder rückgängig gemacht wird, Atomgruppen betrifft, welche für das Zustandekommen der diastatischen Wirkung nicht notwendig sind. Eine Bestätigung dieses Satzes liefern nun die Resultate der in der vorliegenden Abhandlung beschriebenen Versuche; denn die Ammoniakeinwirkung auf wirksame Diastasepräparate liefert dasselbe Bild wie die Ammoniakeinwirkung auf Diastasepräparate, welche durch Kochen unwirksam gemacht worden waren: sie kann also nicht jene Atomgruppen betroffen haben, welche durch das Kochen chemisch verändert worden sind und, da unter den durch das Kochen chemisch veränderten Atomgruppen solche sich befinden, welche für das Zustandekommen der diastatischen Wirkung notwendig sind, kann die Ammoniakeinwirkung auch nicht die für das Zustandekommen der diastatischen Wirkung notwendige Atomgruppe betroffen haben.

Durch dieselben Überlegungen wie in der Abhandlung über Einwirkung von Ammoniak auf wirksame Diastasepräparate kommt man auch hier zu dem Schlusse, daß abgesehen von physikalischer Adsorption und Bindung von Ammoniak zu Ammoniumsalz die durch die Ammoniakeinwirkung betroffenen, demnach zur Diastasewirkung nicht notwendigen Atomgruppen vermutlich in der Aldehydgruppe und der alkoholischen Hydroxylgruppe, bezw. in der aus Aldehydgruppe und alkoholischer Hydroxylgruppe durch Enolbindung entstandenen Atomgruppe zu suchen sind.

Mit diesen Schlußfolgerungen stimmen auch die Resultate der Bestimmung des Amidstickstoffes und die der Prüfung der Fermentwirkung überein.

Amidstickstoff.

Das mit Ammoniakgas behandelte gekochte Diastasepräparat gibt, nachdem das physikalisch adsorbierte und das zu Ammoniumsalz gebundene Ammoniak durch Magnesiumoxyd entfernt worden ist, bei der Einwirkung von salpetriger Säure etwas mehr Stickstoff ab als das nicht mit Ammoniak behandelte gekochte Diastasepräparat und zwar 0,59 und 0,60% gegen 0,44%.

Prüfung der Fermentwirkung.

Die Fermentwirkung wurde auch bei dem gekochten Diastasepräparate durch die Einwirkung von Ammoniak nicht beeinflußt, das Präparat blieb nach der Einwirkung von Ammoniak ebenso wirkungslos wie vorher.

I.

0,2074 g Diastase gekocht III hatten aufgenommen 0,0064 g = 3,09% Ammoniak.

Kontrolle: 0,2 g Diastase gekocht III.

Stärkelösung: 2 g lösliche Stärke : 500 ccm Wasser.

Dauer des Versuches	Kontrolle			Mit Ammoniak behandeltes Präparat		
	Jod- lösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet	Jod- lösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet
Beginn	blau	3,1	0	blau	3,1	0
1/2 Stunde	»	2,7	0	»	3,1	0
1 »	»	2,6	0	»	3,1	0
1 1/2 Stunden . . .	»	2,7	0	»	3,0	0
2 »	»	2,6	0	»	2,9	0
Reduziert Fehling		0			0	

II.

Material vom Auspumpversuche I: 0,1832 g Diastase gekocht III hatten aufgenommen 0,0063 g = 3,44% Ammoniak und dieses beim Auspumpen wieder abgegeben.

Kontrolle: 0,2 g Diastase gereinigt IV (also ein wirksames Diastasepräparat).

Stärkelösung: 2 g lösliche Stärke: 500 ccm Wasser.

Dauer des Versuches	Kontrolle			Mit Ammoniak behandeltes Präparat		
	Jod- lösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet	Jod- lösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet
Beginn	blau	6,4	0	blau	6,0	0
1/2 Stunde	0	13,7	7,3	»	5,5	0
1 »	0	14,1	7,7	»	6,1	0
1 1/2 Stunden . . .	0	13,3	6,9	»	5,6	0
2 »	0	13,0	6,6	»	4,7	0
Reduziert Fehling		stark			0	