

Kryoskopische Molekulargewichts-Bestimmungen mit flüssigem Ammoniak an Glykogen

Von

Leopold Schmid, Ernst Ludwig und Käthe Pietsch

Aus dem II. Chemischen Universitäts-Laboratorium in Wien

(Vorgelegt in der Sitzung am 23. Februar 1928)

Die Eignung des Inulins, das sich, wie Schmid und Becker¹, ferner Reihlen und Nestle² zeigten, unter dem Einflusse des absolut trockenen, verflüssigten Ammoniaks bis zu Teilchen von der ungefähren Größe 320 auflöst und aus diesen Lösungen in der ursprünglichen Form zurückgewonnen werden kann, scheint nicht ein singulärer Fall im Gebiete der Polysaccharide zu sein. Denn die in vorstehender Arbeit geschilderte Beobachtung, daß sich Glykogen durch flüssiges, absolut trockenes Ammoniak in Lösung bringen läßt, bot uns eine Gelegenheit, die gelösten Teilchen auf ihre Molekulargröße hin zu untersuchen. Da wir die Molekulargewichtsbestimmungen nicht mit einem, sondern mit mehreren Präparaten durchführten, möchten wir eine Beschreibung dieser vorausschicken, da in bezug auf ihre Löslichkeit eine gewisse Differenzierung festzustellen war. Das erste von uns verwendete Material war ein „Glykogen puriss.“ der Firma Schuchardt. Es wies einen Aschengehalt von 0·48% auf und zeigte ein Drehungsvermögen von $\alpha = +175\cdot3^\circ$. Dieses Präparat ging in flüssigem Ammoniak mit Ausnahme eines verschwindend geringen Teiles in Lösung. Es ließ sich aus der Ammoniaklösung leicht ziemlich vollständig zurückgewinnen und ergab bei einer neuerlichen Polarisation in Wasser die Drehung von $\alpha = +171\cdot2^\circ$. Es bewirkte gegenüber Fehlingscher Lösung keine Reduktion. Ein zweites auch von Schuchardt bezogenes Glykogen zeigte eine Drehung von $\alpha = +163^\circ$. Sein Aschengehalt betrug 2·68%. Beim Versuche, es in flüssigem Ammoniak zu lösen, mußten wir wahrnehmen, daß ein so beträchtlicher Teil davon sich als Bodenkörper abschied, daß zunächst an eine Molekulargewichtsbestimmung damit nicht zu denken war. Vor Ausführung der Messungen wurde daher dieses Glykogen durch Behandlung mit flüssigem Ammoniak in einen löslichen und einen unlöslichen Teil zerlegt. Das nun aus der Lösung regenerierte Produkt, das eine Drehung von $\alpha = +177^\circ$ zeigte, wurde zu den Bestimmungen herangezogen. Ein drittes uns zur Verfügung gestandenes Präparat stammte von Herrn Dozenten Barrent-

¹ Ber., 58 (1968).² Ber., 59.

scheen, der dieses Glykogen aus Menschenleber bereitet hatte. Auch das ließ ähnlich wie das zweite Schuchardt-Glykogen beim Behandeln mit Ammoniak einen löslichen und einen unlöslichen Teil erkennen. Das wieder aus der Lösung zurückgewonnene Material zeigte $\alpha = +186^\circ$ gegenüber dem ursprünglichen, noch nicht mit Ammoniak behandelten, das eine Drehung von $\alpha = +190^\circ$ aufwies. Fehlingsche Lösung wird von ihm nicht reduziert. Die Molekulargewichtsbestimmungen wurden also mit dem erstbeschriebenen Produkt ausgeführt, ohne daß es vorher zerlegt zu werden brauchte, während vom zweiten und dritten erwähnten Glykogen nur die in Ammoniak löslichen Fraktionen in Untersuchung genommen werden konnten. Da Glykogen ziemlich hygroskopisch ist und gelegentlich des Trocknens bei höheren Temperaturen sich allmählich verfärbt, wurden sämtliche zur Analyse und Molekulargewichtsbestimmung herangezogenen Substanzen bei ungefähr 50° im Hochvakuum zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Da es bei den Bestimmungen mit Rücksicht auf kleine Einwaagen darauf ankam, auch geringe Temperaturdifferenzen bis zu 0.002° möglichst noch feststellen zu können, so hielten wir uns beim Bau der Apparatur im wesentlichen an die Erfahrungen, welche wir bei der Molekulargewichtsbestimmung des Inulins gesammelt hatten. Zur Temperaturbestimmung diente uns ein Platinwiderstandsthermometer. Die Temperaturdifferenzen wurden an einem Spiegelgalvanometer durch Fernrohrbeobachtung abgelesen. Ein Skalenteil entsprach einem Temperaturunterschied von 0.00157° . Als kryoskopische Konstanten legten wir den Messungen den Wert 13.2 zugrunde.

Die aus den Erniedrigungen ermittelbaren Werte ergaben für alle drei in Untersuchung genommenen Glykogen-Präparate eine Teilchengröße von ungefähr 180 an. Dazu möchten wir aber bemerken, daß wir diese Werte bei Einwaagen von 0.03 bis etwa 0.12 g erhielten. Als besonders bemerkenswert erscheint uns auch die Tatsache, daß unmittelbar nach dem Lösungsvorgang keine oder nur eine verschwindende Gefrierpunkterniedrigung zu beobachten ist. Nach und nach kann man eine Depression feststellen, die bei Einwaagen von ungefähr 0.07 g nach etwa 50 Minuten konstant bleibt. Gelegentlich einer Einwaage von 0.15 g äußerte sich diese Erscheinung in der Weise, daß wohl auch Konstanz in der Depression nach etwa 50 Minuten eingetreten war. Diese Bestimmung ließ auf ein wesentlich höheres Molekulargewicht der Teilchen, die in dieser Lösung vorhanden waren, schließen als auf 180. Es sollen also die Werte von 180 mit einem gewissen Vorbehalt angeführt werden, solange für das allmähliche Einstellen dieses Wertes keine Begründung angeführt werden kann. Weitere Versuche, die zu dieser Frage Stellung nehmen, sind im Gange.

Nach Vertreiben des Ammoniaks hinterblieb ein Rückstand, der auf Grund seines Drehungsvermögens und seines

Verhaltens gegen Lösungsmittel als Glykogen angesprochen werden kann.

Beschreibung der Versuche.

Bezüglich der Apparatur, die wir verwendeten, können wir auf die Abbildung und deren Beschreibung in Bd. 58/1970, verweisen. Das benutzte Widerstandsthermometer besaß beim Schmelzpunkt des Ammoniaks einen Widerstand von 17·3 Ohm. Statt der Wheatstoneschen Brücke, wurden Stöpselrheostaten, welche im Verhältnis 1:10 geschaltet waren, verwendet. Die Verbindungsstellen der Kabel waren gelötet. Die Empfindlichkeit des Instrumentes wurde nach der Formel

$$t = 1/0\cdot00572 \cdot r \cdot a$$

berechnet.

t = Anzahl Grade bei 1 Teilstrich der Galvanometerskala;
 a = Ausschlag in Skalenteilen bei Widerstandsänderung von V_2 um 1 Ohm, in unserem Falle 190 Teilstriche;
 r = Gesamtwiderstand von V_2 577·1;
 0·00572 = Temperaturkoeffizient des Platinwiderstandsthermometers bei -75° .

Demnach entspricht der Ausschlag über 1 Teilstrich der Galvanometerskala 0·00157°.

Als Gefriergefäß wurde eine Epruvette mit erweitertem Hals verwendet. Den Verschuß bildete ein vierfach gebohrter Gummistopfen, in dessen Bohrungen das Thermometer, ein Zu- und ein Ableitungsrohr sich befanden. Das Zuleitungsrohr diente einerseits zum Hereindestillieren des Ammoniaks in das Kältegefäß, anderseits zum Durchleiten eines langsamen, scharf getrockneten Stickstoffstroms, um beim Eintauchen des Gefriergefäßes das Einsaugen von Kohlendioxyd infolge rascher Temperaturschwankung zu unterbinden. Da auf die Reinigung des Lösungsmittels besondere Sorgfalt gelegt werden mußte, hielten wir uns bei seiner Bereitung streng an die bei der Inulinarbeit gesammelten Erfahrungen. Das Ammoniak wurde durch Trockentürme, die der Reihe nach mit Natronkalk, Natriumhydroxyd, Natriumamid und Natriumdraht gefüllt waren, geleitet und so vorgetrocknet. Nach dieser Vorbehandlung wurde es in einem Vorratsgefäß mittels Kohlensäure-Aceton zur Kondensation gebracht und durch etwa einstündiges Stehen über Natrium von den letzten Resten Feuchtigkeit befreit. Nach Abdestillieren vom Natrium und neuerlichem Kondensieren im Gefriergefäß erwies sich das Ammoniak für die Bestimmungen rein genug. Ein Luftmantel zwischen Gefriergefäß und Kältemischung war zu vermeiden, weil die Temperatur der Kältemischung bequem in der Nähe des Ammoniak-

schmelzpunktes zu halten ist. Da das zur Bestimmung verwendete Ammoniak nicht gewogen werden konnte, so wurde ein graduiertes Gefriergefäß benutzt und aus dem Volumen und der Dichte das Gewicht des Ammoniaks ermittelt. Das Einfüllen der Substanz in das Kältegefäß dauerte meist etwa 10 Sekunden. Durch Blindbestimmungen überzeugten wir uns, daß ein Öffnen des Gefäßes von gleicher Dauer auf den Gefrierpunkt des Ammoniaks keinen Einfluß ausübt. Als Testbestimmung wurde das Molekulargewicht vom Acetanilid bestimmt. Einwaage von 0.1176 *g* Acetanilid bedingte einen Galvanometerausschlag von 26 Teilstrichen.

Mol.-Gew. gef.: 147.

Mol.-Gew. ber.: 121.

Die folgende Tabelle gibt die Messungen am Glykogen wieder:

Glykogen- Einwaage <i>g</i>	in Ammoniak <i>g</i>	Ausschlag am Galvanometer Teile	Mol.-Gew.
0.0545	22.8	16	131
0.0623	26.3	12	169
0.0597	24.5	14	147
0.0655	24.5	13	173
0.0725	25.8	12	197
0.0547	22.9	12	168
0.0682	25.0	12	191
