

Eine Methode zur Bestimmung der relativen Pepsinmenge.

Von

Dr. Emil Schütz,

Docent an der deutschen Universität in Prag.

(Aus dem medicinisch-chemischen Laboratorium der deutschen Universität in Prag.)

(Der Redaktion zugegangen am 30. Juni 1885.)

Alle bisher in Vorschlag gebrachten Methoden für die Bestimmung des Pepsins beabsichtigten nur eine Ermittlung seiner relativen Mengen. Auch das von mir ausgearbeitete Verfahren ist von dieser Art; es unterscheidet sich aber von den bereits bekannten schon dadurch, dass das Pepsin nicht bloß, wie bei jenen, schätzungsweise gefunden wird, sondern dass es dasselbe einer genauen Messung zugänglich macht.

Es kommt aber noch ein anderer wesentlicher Unterschied hinzu. Fast alle meine Vorgänger haben die Summe sämtlicher Verdauungsprodukte als Maass für das Pepsin benützt, was aber nur unter der Voraussetzung richtig wäre, wenn die einzelnen Produkte in jeder Phase der Verdauung zu einander in einem festen Verhältnisse ständen. Darüber ist jedoch bis jetzt nichts Sicheres bekannt.

Von diesem Gesichtspunkte ausgehend habe ich, auf Vorschlag des Herrn Professor Huppert und unter seiner Leitung, in einer Reihe von Versuchen alle Verdauungsprodukte einzeln bestimmt und die Abhängigkeit derselben von den Verdauungsagentien ermittelt. Die Ergebnisse dieser Untersuchung werde ich in Gemeinschaft mit Herrn Professor Huppert nächstens veröffentlichen. Aus denselben hebe ich nur dasjenige Resultat hervor, welches für die gestellte Aufgabe von Bedeutung ist.

Für das Verständniss desselben wird es nöthig sein, einige Bemerkungen darüber vorzuschicken, wie ich zu den unten angeführten Zahlen gelangt bin. Als Verdauungsobjekt diente eine Lösung von globulinfreiem Eieralbumin. Das Pepsin war durch Selbstverdauung der Schleimhaut vom Schweinsmagen dargestellt und durch anhaltende Dialyse vom Pepton befreit worden. In den Verdauungsversuchen waren alle Bedingungen gleich, nur das Pepsin wurde in wechselnden Mengen angewendet. Aus dem Verdauungsprodukt wurden alle Eiweisskörper mit Ausnahme des Peptons als Eisenoxysalze ausgefällt, die Lösung des rückständigen Peptons in allen Versuchen auf ein und dasselbe Volumen gebracht und ihre Drehung mit einem guten Hofmann-Wild'schen Polari-
strobometer bestimmt. Es ergab sich dabei, dass sich die Peptondrehungen, oder was dasselbe ist, die Peptonmengen verhielten wie die Quadratwurzeln aus den Pepsinmengen.

Als Belege für diese Gesetzmässigkeit führe ich folgende Zahlen an.

I. Versuchsreihe.

| Versuch. | Pepsin. | Peptondrehung in Minuten | | |
|-----------------|---------|--------------------------|---------|------------|
| | | beobachtet. | Mittel. | berechnet. |
| I. | 1 | { 7,5 } { 7,1 } | 7,3 | 7,4 |
| II. | 2 | { 9,7 } { 9,8 } | 9,75 | 10,4 |
| III. | 3 | { 12,8 } { 12,8 } | 12,8 | 12,7 |
| IV. | 4 | { 14,8 } { 14,8 } | 14,8 | 14,7 |
| V. | 5 | { 16,9 } { 16,1 } | 16,5 | 16,4 |
| VI. | 6 | { 19,5 } { 17,4 } | 18,45 | 18,9 |
| Summe | | | 79,60 | 79,60 |

II. Versuchsreihe.

| Versuch. | Pepsin. | Peptondrehung in Minuten | | |
|-----------------|---------|--------------------------|---------|------------|
| | | beobachtet. | Mittel. | berechnet. |
| I. | 1 | { 9,37 } { 9,43 } | 9,40 | 10,8 |
| II. | 4 | { 20,75 } { 20,47 } | 20,61 | 21,6 |
| III. | 9 | { 31,53 } { 33,13 } | 32,33 | 32,4 |
| IV. | 16 | { 45,49 } { 45,20 } | 45,35 | 43,2 |
| V. | 25 | { 54,63 } { 55,80 } | 55,21 | 54,1 |
| VI. | 36 | 69,96 | 64,96 | 64,9 |
| VII. | 49 | { 76,03 } { 75,90 } | 75,97 | 75,7 |
| VIII. | 64 | { 84,80 } { 85,70 } | 85,25 | 86,5 |
| Summe | | | 389,08 | 389,10 |

III. Versuchsreihe.

| Versuch. | Pepsin. | Peptondrehung in Minuten | | |
|-----------------|---------|--------------------------|---------|------------|
| | | beobachtet. | Mittel. | berechnet. |
| I. | 1 | { 52,13 } { 56,78 } | 53,96 | 52,10 |
| II. | 2 | { 76,53 } { 78,33 } | 77,43 | 73,67 |
| III. | 3 | { 86,73 } { 86,33 } | 86,53 | 90,22 |
| IV. | 4 | 103,27 | 103,27 | 104,20 |
| Summe | | | 320,19 | 320,19 |

Man sieht, dass die Uebereinstimmung zwischen den beobachteten und berechneten Drehungen eine grosse ist. Es wird daher auch die oben ausgesprochene Behauptung von der Genauigkeit der Methode nicht als übertrieben erscheinen. Einer Vergleichung meines Verfahrens mit den bereits vorhandenen darf ich mich daher wohl für überhoben halten, und begnüge mich, in dieser Hinsicht nur auf die von Maly¹⁾ gegebene Zusammenstellung zu verweisen.

Ich beschreibe nun zunächst das Verfahren, welches man bei der Pepsinbestimmung einzuhalten hat, in seinen Grundzügen und mache dann noch über Einzelheiten erforderliche Angaben.

Zu den Verdauungsversuchen wird Eieralbumin verwendet, welches von Globulin möglichst befreit ist, und zwar in constanter Menge, weil Versuche von mir und Professor Huppert ergeben haben, dass innerhalb gewisser Grenzen die Menge des Peptons proportional ist der Menge des zur Verdauung verwendeten Eiweisses. Diese constante Albuminmenge soll 1 gr. betragen. Der Gehalt an freier Salzsäure darf zwischen 0,2 und 0,3% HCl schwanken; innerhalb dieser Säuregrade sind die erhaltenen Peptonmengen gleich. Das Gesamtvolumen der Verdauungsflüssigkeit betrage 100 cbcm.; eine kleine Abweichung von diesem Maasse ist ohne Einfluss auf die Menge des Produktes. Man erhält die Proben 16 Stunden auf einer Temperatur von 37,5°. Es braucht nicht noch hervorgehoben zu werden, dass die Menge des Peptons in merklicher Weise von der Dauer des Versuches und von der Höhe der Temperatur abhängt.

Alle diese Bedingungen lassen sich leicht herstellen; nur die Beschaffung von globulinfreiem Albumin macht Schwierigkeiten. Man kann nach Hammarsten bereitetes Albumin verwenden, muss es aber vorrätig haben, weil die Darstellung desselben lang dauert. Aufbewahren lässt es sich nach dem Eindampfen bei 40°. Es löst sich dann zwar zum grössten

¹⁾ Maly, Hermann, Handbuch der Physiologie, Bd. V, 2. Abth., S. 73.

Theil in Wasser, aber doch nicht vollständig, so dass man eine Lösung von bestimmtem Gehalt nicht durch Abwägen des festen Albumins bereiten kann; es muss vielmehr erst von der fertigen Lösung der Albumingehalt ermittelt werden.

Statt dieses zeitraubenden und umständlichen Verfahrens hat mir Herr Professor Huppert ein anderes vorgeschlagen, durch welches diese Schwierigkeiten umgangen werden können. Dasselbe beruht auf der Erfahrung, dass man aus Eiereiweiss durch relativ gleiche Mengen Säure das Globulin vollständig, oder doch für den vorliegenden Zweck so gut wie vollständig ausfällen kann und dass man dabei eine Albuminlösung von nahezu constantem Gehalt an Eiweiss erhält. Es wird so die Darstellung des Albumins wesentlich erleichtert und verkürzt und zugleich die Analyse der Albuminlösung überflüssig gemacht. Mögen auch die Eiweisse der einzelnen Eier in ihrer Zusammensetzung von einander abweichen, so werden sich doch die Durchschnittswerthe einer grösseren Anzahl von Eiweissen einander sehr nähern müssen; man erhält aber 1 Liter Eiweiss im Mittel aus 45 Eiern. Es ist daher auch begreiflich, dass gleiche Mengen Eiweiss zur Fällung des Globulins gleiche Mengen Säure brauchen und dass die Albuminlösung den gleichen Gehalt an Albumin besitzt.

Zur Darstellung der Albuminlösung verfährt man so, dass man dem Eiereiweiss auf das Liter 14 ccm. Salzsäure von 1,12 Dichte (= 3,89 gr. HCl) hinzusetzt und sofort tüchtig schüttelt. Das Eiweiss verliert dabei seine zähe Beschaffenheit und wird unter Abscheidung von Globulin und reichlicher Entwicklung von Kohlensäure dünnflüssig. Es filtrirt leicht, namentlich wenn man die Mischung noch einige Stunden hat stehen lassen.

Die Salzsäure bewirkt an den Stellen, an welchen sie im Eiweiss untersinkt, einen weissen Niederschlag, der jedoch unbedeutend ist und deshalb nicht weiter in Betracht kommt. Will man diesen Niederschlag vermeiden, so braucht man nur eine verdünntere Salzsäure, z. B. 10procentige, anzuwenden. Man wählt Salzsäure zum Fällen des Globulins, weil solche auch als Verdauungssäure verwendet wird; eine

andere Säure könnte mit der Salzsäure bei der Verdauung konkurrieren.

Die Säure entzieht dem Globulin die Basis, zerlegt alle Carbonate und führt die Phosphate in saure Phosphate über. Das ist durchaus nöthig, wenn man sicher sein will, dass die zugesetzte Verdauungssalzsäure als freie Säure in der Verdauungsmischung enthalten ist. In 10 ccm. Eiereiweiss ist ungefähr 1 gr. Eiweiss enthalten. Bereitet man aus 10 ccm. gewöhnlichem Eiereiweiss eine Verdauungsprobe von 100 ccm. und hätte dieser 0,2—0,3 gr. HCl hinzugesetzt, so würde die Flüssigkeit zwar vom sauren Phosphat sauer reagiren, aber das Eiweiss würde nicht verdaut werden; denn das saure Phosphat ist auch in Gegenwart von Chloriden, wie aus Meissner's¹⁾ Versuchen hervorgeht, bei der Verdauung unwirksam.

Andererseits enthält die Albuminlösung trotz ihrer stark sauren Reaktion keine freie Säure; denn sie coagulirt gut beim Kochen. Allerdings bleibt dabei noch eine kleine, durch Ferrocyanwasserstoff nachweisbare Menge Eiweiss in Lösung, aber nicht deshalb, weil die Flüssigkeit zu viel, sondern weil sie zu wenig Säure enthält. Dieser Rest Eiweiss lässt sich durch weiteren Zusatz von Säure entfernen. Man darf dann der gesammten Albuminlösung aber nur sehr verdünnte Säure (Viertelnormalsäure) hinzufügen, wenn man den neutralen Punkt nicht überschreiten will. Um aber auf alle Fälle darüber sicher zu sein, dass die Verdauungsprobe zwischen 0,2 und 0,3% HCl enthält, so setzt man ihr 0,25% HCl hinzu.

Die Albuminlösung ist so gut wie globulinfrei; bei starkem Verdünnen mit Wasser trübt sie sich entweder gar nicht oder nur wenig. Die kleine rückständige Globulinmenge ist für den Versuch belanglos. In der angegebenen Weise bereitete Albuminlösung zeigt bei der Verdauung dasselbe gesetzmässige Verhalten, wie eine Lösung von ganz globulinfreiem Albumin.

Stellt man die Lösung immer aus einem grösseren Volumen Eiereiweiss dar, so enthält sie nahezu dieselbe Menge

¹⁾ G. Meissner, Zeitschrift für rationelle Medicin, 3. R., Bd. VII. S. 16, 1859.

Albumin, wie aus folgenden, mir von Professor Huppert mitgetheilten Thatsachen hervorgeht. In je 10 cbcm. zweier verschiedener Präparate wurden 1,0690 und 1,0514 gr. Albumin gefunden; der Niederschlag ist bei 120° bis zur Gewichtsconstanz getrocknet und die Asche abgezogen worden. Von diesen zwei Präparaten wurde mittelst des Sprengel'schen Pycnometers die Dichte bei $17,5^{\circ}$ bestimmt; sie betrug 1,04112 und 1,04122. Bei einem dritten Albumin wurde sie zu 1,04135 gefunden. Die Uebereinstimmung zwischen den drei Proben ist also eine sehr grosse. Eine ähnliche Uebereinstimmung drückt sich auch in den Verdauungsprodukten aus. Es wurden von fünf anderen Albuminlösungen je 10 cbcm. mit ein und demselben Pepsin unter ganz gleichen Umständen verdaut und dabei für das gebildete Pepton gefunden $2\alpha_D = -57,9', 56,0, 55,8, 54,9, 53,1$, im Mittel $55,5'$. Dass die Verdauungsversuche nicht genauer unter einander übereinstimmen, hat wohl hauptsächlich seinen Grund in der Veränderlichkeit, welcher eine Pepsinlösung von der angewandten Verdünnung unterworfen ist. Bewahrt man stark verdünntes Pepsin über einen längeren Zeitraum auf, wie es bei diesen Versuchen der Fall war, so setzt sich das Pepsin mit dem Mucin zu Boden, und es ist dann sehr schwer wieder vollständig in der überstehenden Flüssigkeit zu vertheilen. Vielleicht verliert es bei der grossen Verdünnung auch an und für sich an Wirksamkeit.

Nach diesen Erfahrungen ist man wohl zu der Annahme berechtigt, dass die Albuminlösungen immer einen nahezu gleichen Gehalt an Albumin besitzen. Er würde für Lösungen, die mit der Salzsäure von 1,12 Dichte dargestellt sind, 1,06 gr. in 10 cbcm. betragen. Bei Verwendung einer schwächeren Säure müsste die grössere Verdünnung in Rechnung gezogen werden. Es dürfte aber nicht überflüssig sein, noch hinzuzufügen, dass zur Sicherstellung dieser Regelmässigkeit im Albumingehalt der Lösung noch eine grössere Anzahl Analysen erwünscht wäre. Käme es in gewissen Versuchen auf absolute Genauigkeit an, so wäre daher wohl die Vornahme einer Eiweissbestimmung anzurathen. Würde es sich dabei um die

Bestimmung des Peptons handeln, so könnte der Verdauungsversuch zu Ende geführt werden, ehe man den Gehalt der Lösung ganz genau konnte. Man müsste aber dann das Resultat noch nach der Regel corrigiren, dass die Peptonmengen proportional sind den zum Versuch verwendeten Eiweissmengen.

Mit einer solchen Albuminlösung kann man eine grössere Zahl von Versuchen ausführen, ohne dass man nöthig hat, sie bald zu erneuern. Sie widersteht, da sie saure Reaktion besitzt, der Fäulniss viel länger, als eine alkalische Eiweisslösung. Sie lässt sich aber, ohne Störung des Resultates, noch haltbarer machen, wenn man ihr auf das Liter 0,2 gr. Thymol, entweder in fester Form oder besser in alkoholischer Lösung (1 cbcm. einer solchen, welche 20 gr. Thymol in 100 cbcm. enthält), hinzusetzt. Das Thymol hat zwar den Nachtheil, dass es etwas Eiweiss fällt und die Lösung milchig trüb macht, aber in dieser Concentration beeinflusst es die Verdauung nicht, wie sich aus einer Reihe von Versuchen ergeben hat, deren Resultate ich hier mittheile. Es wurde in denselben beobachtet bei einem Gehalt an Thymol in 100 cbcm. Verdauungsflüssigkeit:

| | | | | | | |
|---------------|-------|--------|-------|-------|-------|---------------|
| von | 0 | 0,0025 | 0,005 | 0,010 | 0,050 | 0,100 gr |
| $2\alpha_D =$ | -74,9 | 75,7 | 75,4 | 75,9 | 57,4 | 39,9 Minuten. |

Also erst bei der Anwesenheit von mehr als 0,01 gr. Thymol in 100 cbcm. Verdauungsmischung hindert das Thymol die Verdauung. Nimmt man von der thymolisirten Eiweisslösung 10 cbcm. auf 100 Verdauungsflüssigkeit, so enthalten diese nur 0,002 gr. Thymol, also so wenig, dass davon kein nachtheiliger Einfluss auf den Verlauf des Versuches zu befürchten ist.

Eine besondere Betrachtung verdient noch ein Umstand, welcher für die Bestimmung des Peptons von Bedeutung ist. Dieselbe soll polarimetrisch vorgenommen werden. Nun enthält aber das Eiereiweiss, wie schon C. G. Lehmann¹⁾

¹⁾ C. G. Lehmann, Lehrbuch der physiologischen Chemie, II. Aufl., Bd. 1, S. 271, 1853.

angibt, constant Zucker, und da der Zucker nachweislich in die gewonnene Peptonlösung übergeht, so fragt es sich, welcher Fehler dadurch in die Peptonbestimmung eingeführt wird. Dass die fragliche Substanz wirklich Zucker ist, dürfte unzweifelhaft sein. Lehmann wies nach, dass sie die Trommer'sche Probe giebt und dass sie gährungsfähig ist. Prof. Huppert überzeugte sich von ihrer Rechtsdrehung. Um sie zu isoliren, wurde eine grössere Menge Eiereiweiss unter Zusatz von Säure coagulirt und der Rest des in Lösung gebliebenen Eiweisses mit Eisenchlorid ausgefällt. Das Filtrat wurde mit Kupfersulphat und so viel Natronlauge versetzt, dass in einer abfiltrirten Probe nur noch Spuren Zucker nachweisbar waren, der Niederschlag etwas ausgewaschen, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und das Filtrat concentrirt.

Ueber die Menge des im Eiereiweiss enthaltenen Zuckers liegen bereits einige Angaben vor. Lehmann¹⁾ giebt sie zu 0,5% des trockenen Eiweisses (das wäre 0,06% des flüssigen) an, aber wohl zu niedrig; er zog das unter Säurezusatz eingedampfte Eiweiss mit Alkohol aus und bestimmte den Zucker durch Gährung. G. Meissner²⁾ hat 8% des trockenen Eiweisses an Zucker gefunden, was einem Gehalt des flüssigen von 1% entspricht. Das Weisse des gekochten Eies wurde dazu mit Wasser oder mit Salzsäure ausgezogen oder verdaut. Professor Huppert hat zweimal grössere Mengen Eieralbumin coagulirt und in dem Filtrat den Zucker durch Titriren bestimmt; er fand für 100 ccm. Albumin 0,39 und 0,5 gr. Zucker. Betrüge der Gehalt des Albumins an Zucker nun 0,5 gr. in 100 ccm., und nähme man 10 ccm. Albumin für einen Versuch, so würden 0,05 gr. Zucker in die Verdauungsmischung gelangen; ginge während der Verarbeitung des Produkts kein Zucker verloren, so würde die zuletzt gewonnene Peptonlösung dieselbe Menge Zucker enthalten. In 100 ccm. beträgt für 0,05 gr. Zucker $2^{\alpha}_D = 3,15'$; da jedoch in meinen Versuchen die Peptonlösung nur ein Volumen

1) Lehmann, a. a. O., Bd. 2, S. 312, und Bd. 1, S. 265.

2) G. Meissner, a. a. O., S. 12.

von 40 ccm. ausmacht, so wäre $2^{\circ}_D = 7,9'$. Diese Zahl giebt eine ungefähre Vorstellung von der Grösse des Fehlers, mit welchem die Peptonbestimmung, bei Verwendung von frisch bereitetem Albumin, behaftet sein könnte, eine Grösse, welche nicht vernachlässigt werden dürfte. Erweist sich die Albumin- oder die Peptonlösung als zuckerhaltig, so müsste die Peptonlösung, nachdem man den Grad ihrer Drehung ermittelt hat, mit Phosphorwolframsäure und Salzsäure völlig ausgefällt und vom Filtrat die Rechtsdrehung bestimmt werden. Diese wäre, nach der Reduktion auf das ursprüngliche Volumen, der Linksdrehung der Peptonlösung hinzuzuzählen.

Diese Correctur hat man jedoch keineswegs immer nöthig. Beim Stehen der Albuminlösung verschwindet nämlich der Zucker vollständig aus ihr, wie es scheint durch alkoholische Gährung; denn es tritt in ihr eine starke Gasentwicklung ein und sie nimmt einen weinigen Geruch an. Auffällig bleibt dabei, dass eine Albuminlösung auf Zusatz von Hefe nur äusserst langsam vergäht; es scheint, dass eine andere Hefe als die gewöhnliche Alkoholhefe die Gährung bewirkt.

Der Verdauungsversuch selbst wird nun in folgender Weise angestellt. Man misst in ein Kölbchen zusammen Albuminlösung mit 1 gr. Albumin, das Pepsin, dessen Wirkungswerth bestimmt werden soll, Salzsäure mit 0,25 gr. HCl und ergänzt das Ganze auf 100 ccm.

Bedient man sich dazu nach der oben angegebenen Anleitung bereiteter Albuminlösung, so hätte man 9,4 ccm. abzumessen. Aus einem Grunde, welchen ich später noch angebe, war es in meinen Versuchen mit natürlichem menschlichen Magensaft nöthig, nicht mehr als 0,25 ccm. zu verwenden; in solchem Falle verdünnt man, um diese kleine Menge genau abmessen zu können, den Magensaft und nimmt davon den entsprechenden Theil. Die Salzsäure hält man als 5- oder 10procentige vorräthig. Die Mischung nimmt man zweckmässig in dieser Reihenfolge vor: Albumin, Wasser, Salzsäure, Pepsin.

Die Kölbchen werden alsbald nach der Herstellung der Mischung in ein auf $37,5^{\circ}$ angeheiztes Wasserbad gebracht und 16 Stunden (über Nacht) darin gelassen. Während dieser Zeit soll man die Temperatur des Bades möglichst auf der angegebenen Höhe halten; mir hat dabei der Soxhlet'sche Regulator gute Dienste geleistet.

Nach Ablauf der angegebenen Zeit giesst man die Versuchsflüssigkeit in eine ungefähr 500 ccm. fassende Schale, spült das Kölbchen mit Wasser nach und neutralisirt die Säure. Man bedient sich dazu einer ungefähr 5procentigen Natronlauge (von der Dichte 1,059 bei 15° C.), deren Titer man auf die Verdauungssäure gestellt hat, und lässt das berechnete Volumen aus einer Burette zufließen. Alsdann hat man alle Eiweisssubstanzen, mit Ausnahme des Peptons, zu entfernen. Das Verfahren, welches sich nach meinen eigenen und vielfachen Erfahrungen Anderer dazu am besten bewährt hat, ist folgendes. Man versetzt die Flüssigkeit mit etwas essigsauerm Natron, dann mit 5 ccm. einer ungefähr 15procentigen, kalt bereiteten Eisenchloridlösung und neutralisirt. Dazu wird dieselbe Lauge verwendet, mit welcher die freie Säure neutralisirt wurde. Man setzt sie aus einer Burette zu und erfährt so annähernd diejenige Menge Lauge, welche man ein- für allemal in jedem einzelnen Versuche braucht. Die Reaktion muss mit sehr empfindlichem (violetten) Lackmuspapier geprüft werden. Nach dem Neutralisiren füllt man die Schale vollends mit Wasser an und kocht, wobei man darauf zu sehen hat, dass sich das Coagulum nicht in zu groben Flocken abscheidet. Die Flüssigkeit reagirt nach dem Kochen wieder sauer und enthält noch Eiweiss in Lösung. Man lässt erkalten, setzt noch 0,5 ccm. Eisenchlorid zu, neutralisirt wieder sorgfältig, ersetzt das verdunstete Wasser und kocht wieder. Jetzt hat man die Flüssigkeit auf noch in Lösung befindliches Eiweiss zu prüfen. Zu diesem Zwecke saugt man mit einer capillar ausgezogenen Pipette etwas von der klaren, über dem Niederschlag stehenden Flüssigkeit auf, bringt sie in ein kleines, etwa 5 mm. weites Reagenzglas, schichtet auf die Flüssigkeit eine kleine Quantität einer

schwachen Lösung von Ferrocyanwasserstoff, und sieht nach, ob sich an der Berührungsstelle beider Flüssigkeiten eine weisse Zone bildet. Man belichtet dazu das Glas gut und hält es gegen einen dunkeln Hintergrund. Tritt der Niederschlag auch nach einiger Zeit nicht auf, so ist die Fällung gelungen. Meist ist dies jedoch noch nicht der Fall. Man wiederholt dann das Verfahren, bis jede Spur Eiweiss entfernt ist, setzt aber immer nur einige Zehntel cbcm. Eisenchlorid hinzu.

Hat man die Fällung vollendet, so kocht man auf ein kleines Volumen ein, bringt den Inhalt der Schaaale ohne Verlust in einen Maasscylinder und füllt auf 250 cbcm. auf. Man schüttelt häufig, lässt über Nacht stehen, filtrirt, misst vom Filtrat 200 cbcm. ab, dampft fast zur Trockne ein und bringt den Rückstand auf ein Volumen von 40 cbcm. Die Lösung hat jetzt dieselbe Concentration, als wenn sämtliche 250 cbcm. der ursprünglichen Flüssigkeit auf ein Volumen von 50 cbcm. gebracht worden wären. Von dieser Peptonlösung bestimmt man dann die Drehung im 2 Dm.-Rohr. Enthält die Peptonlösung Zucker, so hat man, wie bereits bemerkt, aus einem bestimmten Volumen das Pepton mit Phosphorwolframsäure zu entfernen und die für den Zucker entfallende Drehung zu der des Peptons hinzuzurechnen.

Es ist noch zu bemerken, dass die Gesetzmässigkeit zwischen der Pepton- und Pepsinmenge, auf welche sich diese Bestimmungsmethode des Pepsins gründet, aus Ursachen, welche ich hier nicht entwickeln kann, nur dann Gültigkeit hat, wenn die Drehung nicht über 100 Minuten beträgt. Fällt sie höher aus, so hat man den Versuch mit entsprechend kleineren Pepsinmengen zu wiederholen.

Die unter den angegebenen Verhältnissen beobachtete Drehung genügt schon für viele Fälle von vergleichenden Versuchen, und auf sie beziehen sich die von mir oben über das Verhältniss des Pepsins zum Pepton, ferner die über die Verdauungshemmung durch das Thymol, sowie die bei Besprechung der Concentration der Albuminlösung gemachten Angaben. Will man die dem Pepton wirklich entsprechende Drehung finden, so hat man Folgendes zu berücksichtigen.

Die Drehung im 1 Dm.-Rohr ergiebt den Gehalt an Substanz in 100 cbcm., die im 2 Dm.-Rohr also den Gehalt für 200 cbcm. Von der Lösung von dieser Concentration waren aber nur 50 cbcm. vorhanden. Man hat also die beobachtete Drehung durch 4 zu dividiren.

Aus dieser Drehung lässt sich dann auch, mittelst der spec. Drehung des Eieralbuminpeptons, die Peptonmenge berechnen. Für Verdünnungen, wie die polarimetrisch untersuchten Lösungen ergiebt sich nach Bestimmungen von Professor Huppert und mir $(\alpha)_D$ annähernd $= -65,3^\circ = -3918'$. Einer Drehung von $39,18'$ entspricht demnach 1 gr. Pepton, d. h. man findet die Menge des Peptons in Grammen, wenn man die wirkliche Drehung durch 39,18 oder die beobachtete Drehung durch $4 \cdot 39,18$ dividirt.

Um aus den gefundenen Peptonmengen die relativen Pepsinmengen zu berechnen, hat man die Pepsinzahlen zu quadriren. Man erfährt so, in welchem Verhältniss die Pepsinmengen in den einzelnen Versuchen zu einander stehen. Um einen festen Punkt für die Vergleichung zu gewinnen, könnte man die eine oder die andere Beobachtung herausgreifen und dann sagen, in welchem Verhältniss alle anderen bestimmten Pepsinmengen zu der des einzelnen Falles stehen. Ein solches Maass wäre aber ganz willkürlich und deshalb unpraktisch. Als richtiges Maass wäre dagegen ein solches zu bezeichnen, auf welches man alle Beobachtungen beziehen könnte, und in diesem Sinne mache ich den Vorschlag, diejenige Pepsinmenge als die normale zu bezeichnen, welche unter den geschilderten Versuchsbedingungen 1 gr. Pepton zu bilden vermag. Diese Grösse bezeichne ich als Pepsineinheit. Man hat dann zu ermitteln, wie viel Pepsineinheiten in der Volumseinheit von 1 cbcm. Pepsinlösung enthalten waren. Bezeichnet man mit P die Pepsineinheit, mit m die direkt beobachtete Drehung in Minuten, mit p die Anzahl cbcm. der verwendeten Pepsinlösung, so findet man die Anzahl der Pepsineinheiten nach:

$$P = \frac{1}{p} \left(\frac{m}{4 \cdot 39,18} \right)^2.$$

Ein Beispiel möge zur Erläuterung dienen. Es sei unter den angegebenen Bedingungen ein Verdauungsversuch mit 0,25 ccm. natürlichem Magensaft angestellt worden und es habe sich $2^{\alpha_D} = 75'$ ergeben. Es ist dann:

$$P = \frac{1}{0,25} \left(\frac{75}{156,7} \right)^2 = 4 \cdot 0,229 = 0,916.$$

Im Cubikcentimeter des untersuchten Magensaftes wären also 0,916 Pepsinheiten enthalten.

Auf diese Weise sind die Pepsineinheiten in meiner Untersuchung über den Pepsingehalt des Magensaftes ¹⁾ bestimmt worden.

¹⁾ Schütz, Prager Zeitschrift für Heilkunde, Bd. 5, S. 401, 1884.