

# Verdaunungsproducte des Caseïns und ihr Phosphorgehalt.

Von

Waclaw v. Moraczewski von Warschau (Polen).

(Der Redaction zugegangen am 14. Mai 1894.)

## Literarisches.

Lubavin, der die Spaltung des Caseïns in Nucleïn und Peptone bei der Verdauung beobachtet hatte<sup>1)</sup>, erwähnt in der bald darnach folgenden Mittheilung<sup>2)</sup>, dass das Nucleïn einen verschiedenen Gehalt an Phosphor hat, je nachdem es kürzer oder länger in der Verdauungsflüssigkeit geblieben ist<sup>3)</sup>. Ein länger dauerndes Verdauen erhöht nach Lubavin den Phosphorgehalt des Nucleïns. Der Phosphor soll nach ihm im Nucleïn ebenso gebunden sein, wie es im Caseïn der Fall ist. Durch Kochen mit Wasser lässt sich der Phosphorgehalt des Caseïns auf 0,18% reduciren. Die Frage darnach, ob aller Phosphor des Caseïns im Verdaunungsproducte, also im Nucleïn, wiederzufinden ist, wurde von Lubavin nicht beantwortet. Die Arbeiten, welche seither über Verdaunungsproducte des Caseïns veröffentlicht wurden, lassen die Frage unberührt. Man hat das Verhältniss des Caseosen- und Pepton-Stickstoff in Verhältniss zu dem Nucleïn-Stickstoff gebracht<sup>3)</sup>. Man bestimmte die Menge der Verdaunungsproducte, z. B. die Menge der Pep-

<sup>1)</sup> Hoppe-Seyler's med.-chem. Untersuch., Heft 4; auch Ber. d. deutsch. chem. Ges., X, S. 2239.

<sup>2)</sup> Ber. d. deutsch. chem. Ges., XII, S. 1021.

<sup>3)</sup> Th. Pfeiffer, Bestimm. des Stickst. der Stoffwechselprod., Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 10, S. 561.

tone<sup>1)</sup>). Klinkenberg<sup>2)</sup> untersucht das Verhältniss der Phosphormenge im Nuclein zu der in ihm enthaltenen Schwefel- und Stickstoffmenge, spricht aber nichts von dem Verhältniss des Casein-Phosphors zu dem erwähnten Nuclein-Phosphor. R. H. Chittenden<sup>3)</sup> führt an, dass das Dyspepton, durch Verdauung des Caseins gewonnen, phosphorhaltig ist, ohne jedoch den Gehalt an Phosphor anzugeben. Chittenden war der Meinung, dass der Phosphor als Kalkphosphat vorhanden sei. Sein Dyspepton enthielt bis 15% Asche. Thierfelder<sup>4)</sup> hat die Asche der Caseinpeptone zu 1—2% bestimmt, die Aschenbestandtheile blieben unerwähnt. Die vielen Forscher<sup>5)</sup>, die sich mit der Spaltung des Caseins beschäftigten, sowohl der durch künstliche Verdauung, wie der durch Bacterien bewirkten, erwähnen überhaupt nicht den Phosphorgehalt der dabei resultirenden Peptone. Auch E. Schulze<sup>6)</sup>, welcher die Spaltung des Caseins auf chemischem Wege unternommen hat, spricht sich über diese Frage nicht aus.

Was das Nuclein anbetrifft, so erwähnt Bokay<sup>7)</sup>, dass es der Trypsinverdauung widersteht. Szontagh<sup>8)</sup> gibt dagegen an, dass das Nuclein bei Pepsinverdauung Eiweiss abspaltet und phosphorreicher wird, was mit der Beobachtung

<sup>1)</sup> A. Dogiel, Eiweisskörper d. Frauen- u. Kuhmilch, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 9, S. 609.

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 6, S. 566.

<sup>3)</sup> Hoffmann, Verdaulichk. d. Caseins. Dissert. Berlin 1881.

<sup>4)</sup> Caseoses dyspept. and caseopept. Stud. from the Lab. of physiol. Chem. of Sale Univ., III, p. 66.

<sup>5)</sup> Zur Kenntniss d. Caseinpeptone, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 10.

<sup>6)</sup> Schmidt-Mülheim, Beiträge zur Kenntn. der Eiweissst. der Milch, Pflüger's Arch., Bd. 28; Winternitz, Verhalt. d. Milch u. ihrer wichtigst. Best. bei d. Fäulniss; A. Baginski, Biologie d. Milchkothbacterien, Zeitschrift für physiol. Chem., Bd. 12; J. Sebelien, zur Kenntn. der Eiweisskörp. d. Kuhmilch, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 9; Bouchardat, Sur le caseum, Compt. Rend., 14, p. 962; Danilewsky, Recherches sur la nature de caséine, Société chim. russe 1883.

<sup>7)</sup> E. Schulze, Amidosäuren, d. durch Zersetz. des Eiweiss durch  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  entst., Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 9.

<sup>8)</sup> A. Bokay, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 1.

<sup>9)</sup> Fr. Szontagh, Magyar orsoti Arch., Budapest, Bd. 1.

von Lubavin übereinstimmt. Ob dabei Phosphor mit in Lösung geht, gibt Szontagh nicht an. In der neuesten Zeit erschien eine kurze Mittheilung von Salkowski<sup>1)</sup>, welche die Frage über das Verhältniss des Caseinphosphors zum Nucleinphosphor direct berührt. Die Arbeit von Salkowski, die im Laufe meiner Untersuchungen über die gleiche Frage erschienen ist, ergibt ein Resultat, welches mit meinen Beobachtungen übereinstimmt, dass nämlich nicht aller Phosphor des Caseins im Nuclein zu finden ist, sondern nur ein Theil davon, dagegen kann ich nicht der dort ausgedrückten Meinung beistimmen, dass sich alles Nuclein in der Verdauungsflüssigkeit löst. — Auch lässt er das Verhältniss des Nucleinphosphors zum Caseosenphosphor unberücksichtigt. Es dünkte mir desshalb lohnenswerth, meine Untersuchungen fortzusetzen, um so mehr, als im Beginn meiner Arbeit darüber noch nichts bekannt war.

Auf Anlass des Herrn Prof. E. Drechsel habe ich mir als Aufgabe gestellt, die Frage zu beantworten, ob der Phosphor, welcher im Casein vorhanden und organisch gebildet ist, gänzlich dem Nuclein angehört und, wenn das nicht der Fall wäre, wie viel davon im Nuclein, wie viel dagegen im Filtrat, also in Caseosen- und Peptonenlösung, zu finden ist. Es sollte ferner untersucht werden, ob das Verhältniss des Nucleinphosphors zum Caseinphosphor und zu dem Filtratphosphor constant sei. Als Filtratphosphor bezeichne ich diejenige Phosphormenge, welche in Caseosen- und Peptonlösung vorhanden ist, also von dem Nucleinniederschlag abfiltrirbar ist. Endlich sollte untersucht werden, in welcher Form, d. h. organisch oder unorganisch gebunden, der Phosphor sich im Filtrate von Nuclein befinde. Um eventuelle Schwankungen beobachten zu können, welche von dem Alter oder Ernährungszustand der Kühe abhängen, sollten die Untersuchungen an einem Casein, welches ausschliesslich von je einer Kuh stammt, vorgenommen werden.

<sup>1)</sup> Centr. f. med. Wiss., 23 u. 28.

Man musste also, um über die gestellten Fragen zu entscheiden, eine bestimmte Caseïnmenge in Arbeit nehmen, deren Phosphorgehalt genau bestimmen und die Verdauungsproducte auf Phosphorgehalt ebenso genau quantitativ prüfen, nachdem man sowohl die Menge des entstandenen Nucleïns, wie die der Peptone genau bestimmt und mit der ursprünglich verwendeten Caseïnmenge verglichen hatte. Die Summe des Nucleïnphosphors und des Peptonphosphors soll natürlich dem Caseïnphosphor gleich sein. Aus diesen drei Zahlen lassen sich die Verhältnisse bilden. Die Verdauung sollte nach einem Zusatz von künstlichem Pepsin in Salzsäure von 0,2—0,3% vor sich gehen, dessen Phosphorgehalt genau bestimmt werden kann. Das Caseïn sollte aschenfrei sein, also nur organisch gebundenen Phosphor enthalten.

#### **Erste Versuchsreihe und Methode.**

Die Milch wurde über Nacht stehen gelassen, damit sich der Rahm oben ansammle. Er wurde dann möglichst genau abgehoben. Die abgerahmte Milch wurde mit destillirtem Wasser auf das Vierfache verdünnt und dann soviel 30proc. Essigsäure zugefügt, dass die Säure 0,1% der ganzen Menge (Wasser und Milch) betrug<sup>1)</sup>. Das sich absetzende Caseïn wurde durch Decantiren mit destillirtem Wasser gewaschen bis die saure Reaction verschwunden, also keine Essigsäure nachweisbar war. Das so gewaschene Caseïn wurde durch Leinwand colirt, ausgepresst, dann nochmals im Porzellanmörser mit destillirtem Wasser zerrieben und abfiltrirt. Darnach wurde es abermals mit Wasser im Mörser zerrieben und unter langsamem Zusatz von schwacher Natronlauge aufgelöst. Das frisch gefällte und nicht zu lange mit Wasser behandelte Caseïn löst sich sehr leicht in Natronlauge, bevor die Reaction mit Lacmus Neutralität zeigt. Die so erhaltene Lösung wird durch doppelte Filter, die vorher mit Wasser befeuchtet werden müssen, filtrirt. Dabei sammelt sich das Fett oben und kann abgehoben werden. Die Caseïn-

<sup>1)</sup> O. Hammarsten: Zur Kenntniss des Caseïns.

lösung filtrirt meistens schlecht und fault bei Sommerzeit ausserordentlich leicht, so dass es rathsam ist, der Lösung Thymol oder Pfeffermünzöl zuzusetzen, was gährungs- und fäulnisshemmend wirkt. Die filtrirte Caseïnlösung wird mit Essigsäure ausgefällt, wobei das Caseïn, wenn es fettarm ist, sich zu harten Klumpen zusammenbackt und leicht zu decantiren ist. Das Auswaschen wird hier so vorgenommen, dass man das Caseïn mehrmals im Mörser zerreibt und im Mörser selbst unter Zerreibung auswäscht, darnach auf dem Filter sammelt und dies so lange wiederholt, bis das Caseïn eine fein zerriebene Masse geworden ist. Dann wird es aufs Neue in Natronlauge gelöst und abermals filtrirt. Dies wurde zwei Mal wiederholt. Das reine Caseïn wurde im Platintiegel verkohlt und geglüht, es gab keine Asche. Es wurde nun in einer 0,2—0,1 proc. Salzsäure gelöst und filtrirt. Von der filtrirten Caseïnsalzsäurelösung wurden 50 ccm. auf eine Platinschale gebracht und erst auf dem Wasserbade getrocknet, dann im Ofen bei 100° bis 110° und genau gewogen. Die 50 ccm. gaben einen Rückstand, der 2,0437 gr. wog. Andere 50 ccm. ebenso behandelt gaben 2,0320 gr. Die erste Probe wurde im Silbertiegel verbrannt, um den Phosphor nach Liebig zu bestimmen. Dazu wurde der Rückstand in der Platinschale mit Natronlauge übergossen und aufgeweicht; die weiche Masse liess sich in den Silbertiegel bringen, das an die Platinschale haftende Caseïn wurde durch das trockene Pulver — bestehend aus 1 Theil Salpeter und 7 Theilen chem. rein. Soda — sehr leicht von der Platinschale entfernt und zu der ersten Menge zugesetzt. Der Inhalt des Silbertiegels wurde nun mit der Mischung von Salpeter und Soda bedeckt und die Verbrennung in Gang gesetzt, so dass nur eine Seite des Tiegels erwärmt wurde. Wenn sich eine Bräunung auf der Oberfläche der Masse zeigte, wurde sie sofort durch kleine Portionen Soda zugedeckt. Auf diese Weise geht die Verbrennung ruhig vor sich und wenn sie soweit fortgeschritten ist, dass die Masse zu schmelzen anfängt, stellt man die volle Flamme unter den Tiegel und beendet die Verbrennung unter Zusatz von Salpeter, wenn es sich als nöthig zeigt. Die Methode kam mir

einfacher vor als das von Hammarsten empfohlene Abdampfen des Eiweisses mit Salpetersäure und nachheriges Verbrennen. Die Schmelze, die ganz weiss aussah, wurde sammt dem Tiegel in eine Porzellanschale gebracht und in kochendem Wasser gelöst. — Die filtrirte Lösung floss in concentr. Salzsäure, was mir praktischer erschien, als das nachherige Zusetzen von Salzsäure, wobei die Salzsäure oben schwimmt und leicht überschäumt. Um die Verluste durch das Entweichen der  $\text{CO}_2$  zu vermeiden, wurde die Lösung in ein möglichst hohes Becherglas filtrirt. Das Filter wurde sehr sorgfältig gewaschen. Das Waschwasser floss in das gleiche Becherglas, wie die concentr. Lösung. Die mit Salzsäure übersättigte Lösung wurde mit Ammoniak neutralisirt und mit 20 ccm. Magnesiamischung versetzt. (Die Magnesiamischung wurde nach Fresenius bereitet durch Umwandeln des Magnesiumsulfats in Magnesiumchlorid mittelst Baryumchlorid. Es wurde mit  $\text{H}_2\text{SO}_4$  geprüft, ob die  $\text{MgCl}_2$ -Lösung Ba-frei war. Zu der Magnesiumchloridlösung wurden Ammoniak und Chlorammonium in üblicher Menge zugesetzt.) Ammoniak wurde in solcher Menge angegeben, dass sein Volum das Viertel des Gesamtvolums betrug. Nach 24 Stunden wurde der sich krystallinisch absetzende Niederschlag filtrirt, mit Wasser, dem ein Viertel Ammoniak zugesetzt war, gewaschen und getrocknet, um im Porzellantiegel verbrannt zu werden, oder direkt im Platintiegel verbrannt. Das so gewonnene Magnesiumphosphorhalt wog 0,0643 gr.

50 ccm. Caseinlösung gibt 2,0437 gr. Trockensubst. = 0,0643  $\text{M}_2\text{P}_2\text{O}_7$ .

50 » » » 2,0320 » » = 0,0742 »

0,0643 entsprechend 0,878 % P, 0,9485 % Mittel.

0,0742 » 1,019 » P im Casein.

Auf diese Weise wurde der Caseingehalt der Lösung und zugleich der Phosphorgehalt derselben festgestellt.

Versuch A. 350 ccm. der 4,0756 proc. Caseinsalzsäurelösung wurden mit 0,4421 gr. Pepsin versetzt und bei  $40^\circ$  verdaut. (Das Pepsin wurde trocken analysirt und sein Phosphorgehalt festgestellt; er wurde in dieser Reihe unberücksichtigt gelassen.) Die klare Lösung des Caseins schied

sehr bald einen gallertigen Niederschlag von Paranuclein aus. Derselbe wurde abfiltrirt, wobei ein sehr klares Filtrat abfloss. Das Filtriren ging ziemlich langsam, besonders das Auswaschen, welches so lange fortgesetzt wurde, bis keine Biuretreaction in dem Waschwasser mehr auftrat. Dann wurde das Paranuclein auf dem Filter mit Alcohol absolutus behandelt und mit Aether begossen, endlich so entwässert bei  $110^{\circ}$  getrocknet. Da es auf ein vorher gewogenes Filter gebracht war, so wurde es jetzt mit dem Filter wieder gewogen und zur Analyse verwendet. Das Filtrat mit dem Waschwasser wurde abgedampft, der Rückstand bei  $101^{\circ}$  getrocknet und mit der Porzellanschale, in der es abgedampft wurde, gewogen. Bei dem Abdampfen wird das die Caseosen und Peptonen enthaltende Filtrat braun bis schwarz, was wohl auf einer Einwirkung der Salzsäure beruht. Der so erhaltene braune Rückstand wurde entweder ganz zur Analyse gebraucht, wobei man das Eiweiss ähnlich wie das Casein aus der Platinschale entfernte, oder es wurden Stückchen abgebrochen und die Schale mit dem gebliebenen zurückgewogen. Die Differenz zeigte die gebrauchte Menge.

350 ccm.	Casein	14,2646 gr.	entspr.	0,1352347 Pc	Caseinphosphor.
	Pepton	0,4421 »	»		
	Nuclein	1,9327 »	»	0,0464587 Pn	Nucleinphosphor.
	Filtrat	12,7747 »	»	0,0738377 Pf	Filtratphosphor.

Das Nuclein betrug 13,6 % des Caseins.

Der Nucleinphosphor 34,2 » » Caseinphosphors.

Das Verhältniss des Caseinphosph. zu Nucleinphosph. 2,9 : 1.

» » » Filtratphosph. zu Nucleinphosph. 1,589 : 1.

2,04379 gr.	Casein	= 0,06430	$M_2P_2O_7$	entspr.	0,878 %	} Mittel 0,9485 %
2,0320 »	»	= 0,07420	»	»	1,019 %	
0,7353 »	Nuclein	= 0,0470	»	»	1,7850 %	} Mittel 2,089 %
0,7931 »	»	= 0,0679	»	»	2,393 %	
2,9566 »	Pepton	= 0,0633	»	»	0,598 %	} Mittel 0,5785 %
4,7460 »	»	= 0,0950	»	»	0,559 %	

Versuch B. 200 ccm. von derselben Caseinsalzsäurelösung, welche für Versuch A gebraucht wurde, behandelte man auf gleiche Weise. Nur war hier die Pepsinmenge grösser, 1,3886 gr. Die Verdauung dauerte ebenso lang wie bei A.

Das Paranuclein sah dem früheren ganz ähnlich. Es wurde auf ein gewogenes Filter gebracht, mit 0,1% Salzsäure, wie bei A, ausgewaschen, bis das abfließende Wasser eiweissfrei war, dann mit Alkohol und Aether ausgewaschen und bei 110° getrocknet. Es wog 1,2030 gr. Das Filtrat vom Nuclein, welches Caseosen und Peptone enthielt, wurde abgedampft und getrocknet bei 110°. Der feste Rückstand betrug 8,3421 gr., wovon 1,3886 gr. Pepsin ist.

200 chem. Caseinlösung	= 8,1515 gr. Casein entspr.	0,0772769 gr. Pc.
	= 1,2030 » Nuclein »	0,0289634 » Pn.
	= 6,9535 » Filtrat »	0,0459649 » Pf.
	= 1,3886 » Pepsin	

Das Nuclein betrug 14,724% des Caseins.

Der Pn » 37,5 » » Pc.

Das Verhältniss des Caseinphosph. zu Nucleinphosph. 2,6 : 1.

Das » » Filtratphosph. zu Nucleinphosph. 1,5866 : 1.

0,5071 gr. Nuclein gab verbrannt	0,0470 $M_2P_2O_7$ entspr.	2,588 % P.
0,4843 » » » »	0,0402 » »	2,320 » »
0,8931 » Pepton u. Caseon »	0,0447 » »	0,4314 » Pf.

Versuch C. 250 chem. Caseinlösung von gleicher Concentration wie in den vorigen Versuchen wurden mit 1,389 gr. Pepsin versetzt und der Verdauung überlassen. Die Dauer der Verdauung war bei allen drei Versuchen ziemlich gleich, ebenso wie die Temperatur, bei welcher sie vorging.

Der Niederschlag von Paranuclein betrug gewaschen und getrocknet 1,7735 gr. Der Rückstand, den nach dem Eindampfen und Trocknen das Filtrat zurückliess, wog 9,8140 gr., wovon 1,3980 gr. Pepsin ist.

250 chem. Caseinlösung	= 10,189 gr. entspr.	0,0965962 gr. Pc.
Pepsin	= 1,398 »	
Nuclein	= 1,7735 » »	0,0427236 » Pn.
Filtrat	= 8,4160 » »	0,0540751 » Pf.

Das Nuclein betrug 17,405% des Caseins.

Der Pn » 44,2 » des Pc.

Das Verhältniss des Pc zu Pn ist 2,16 : 1.

» » » Pf zu Pn » 1,265 : 1.

1,0532 Nuclein verbrannt gab	0,0866 $M_2P_2O_7$ entspr.	2,297 %.
1,7402 Filtrat » »	0,0388 » »	0,6146 »

### Zweite Versuchsreihe.

Die Milch stammte von einer anderen Kuh, als die der ersten Versuchsreihe. Das Casein wurde ebenso gereinigt, nur musste hier wegen besonderen Fettreichthums die Procedur öfters wiederholt werden, wobei das Casein etwas Phosphor verlor. Das so dargestellte Casein wurde auf eine andere Methode mit Pepsin beschickt, die wie folgt ausgeführt wurde. Das Casein, welches ganz aschenfrei war, wurde in schwacher Natronlauge gelöst, zu der Natronlauge-Caseinlösung eine bestimmte Menge Pepsinlösung zugefügt und das Casein durch Essigsäure ausgefällt. Das Casein imprägnirt sich sehr gut mit Pepsin und reißt es mit sich nieder. Der Milchzucker, welcher gewöhnlich dem Pepsin beigemischt ist, geht in das Filtrat über. Das Casein, welches jetzt pepsinhaltig ist, wird abfiltrirt und sorgfältig gewaschen. Das Filtrat mit dem Waschwasser abgedampft, getrocknet bei  $110^{\circ}$  und auf Phosphor quantitativ untersucht. Das gewaschene Casein wird vom Filter in ein Porzellanmörser gebracht, mit 0,1 proc. Salzsäure zerrieben und durch weiteren Zusatz von ebenso starker Salzsäure in Lösung gebracht. Die Salzsäure-Caseinlösung wurde der Verdauung überlassen, welche hier sofort unterbrochen wurde, wie sich das Nuclein auszuschneiden begann. Diese Methode der Imprägnation des Caseins mit Pepsin wurde schon von Cl. Wildenow<sup>1)</sup> benutzt. Sie hat gewisse Vortheile vor der ersten, besonders das Entfernen des Milchzuckers vom Pepsin, was jedoch für unsere Zwecke von weniger Bedeutung war, dagegen hat sie auch ihre Schattenseiten, welche uns veranlasst haben, die frühere Methode als ebenso gut anzuerkennen und neben der letzten zu üben. Es kommt nämlich nicht zu selten vor, dass das Pepsin aus dem gefällten Casein ausgewaschen wird durch zu langes Waschen. In zweiter Linie muss man den Umstand berücksichtigen, dass das Casein in der Natriumacetatlösung, die beim Fällen des Caseinpepsins entsteht, etwas löslich ist<sup>2)</sup>. Man bekommt

<sup>1)</sup> Cl. Wildenow, Inaugural-Dissert. Bern.

<sup>2)</sup> O. Hammarsten, Zur Kenntniss des Caseins und des Labfermentes.

somit im Filtrat Phosphor von zweierlei Herkunft. Caseinphosphor und Pepsinphosphor. Endlich war es recht unangenehm, die Lösung des Pepsincaseins in Salzsäure nicht mehr filtrieren zu dürfen. Man riskierte bei der langdauernden Filtration, Verdauung auf dem Filter zu bekommen. Dagegen erlaubt die erste Methode die Salzsäure-Caseinlösung zu filtrieren und auf diese Weise sie ganz homogen zu haben.

25 cbcm. der Natronlauge-Caseinlösung wurden vor dem Versetzen mit Pepsin abgedampft und bei  $110^{\circ}$  getrocknet. Der Rückstand wog 0,875 gr. Verbrannt und mit Magnesiainmischung ausgefällt ergab er nach dem Glühen 0,0211 gr. Magnesiumpyrophosphat entsprechend 0,673% Phosphor.

100 cbcm. dieser Lösung, in der somit Phosphor und Caseinmengen bekannt waren, wurden mit 5 cbcm. einer 10 proc. Pepsinlösung versetzt und nach dem Ausfällen des Caseins dasselbe in HCl-Lösung der Verdauung im Brütöfen überlassen. Nach 24 Stunden wurde das ausgeschiedene Nuclein abfiltrirt, mit 0,1% Salzsäure gewaschen und nach dem Entwässern mit Alkohol und Aether bei  $110^{\circ}$  getrocknet. Es wog 0,5195 gr. Das Filtrat, welches nach dem Ausfällen des Pepsincaseins durch Essigsäure gewonnen wurde und welches wir das erste Filtrat nennen wollen, wurde abgedampft, bei  $110^{\circ}$  getrocknet und verbrannt, nachdem es gewogen worden war. Der Rückstand wog 0,7687 gr. Die von dem Paranuclein abfiltrirte Flüssigkeit wurde ebenfalls abgedampft und getrocknet. Der feste Rückstand wog 2,9703 gr. Wir wollen dieses Filtrat das zweite Filtrat nennen.

Somit enthielten:

100 cbcm. Caseinlösung	= 3,5	gr. Casein entspr.	0,023555 gr. Pc.
	= 0,7686	» Filtr. I	» 0,000980 » Pf.
	= 0,5195	» Nuclein	» 0,004579 » Pn.
	= 2,9703	» Filtr. II	» 0,008082 » Pf.
	= 0,5	» Pepsin	» 0,00182 » Pp.

Das Nuclein betrug 14,84% des Caseins.

Der Pn » 50,54 » » Pc.

Das Verhältniss des Pc zu Pn 5,1 : 1.

» » » Pf zu Pn 1,76 : 1.

0,7686 gr. Filtr. I	gab	0,0018 $M_2P_2O_7$	entspr.	0,0654 %	Pf.
0,5195 » Nuclein	»	0,0164 »	»	0,8816 »	Pn.
1,221 » Filtr. II	»	0,0119 »	»	0,2721 »	Pf.
0,875 » Casein	»	0,0211 »	»	0,673 »	Pc.

Weitere Versuche wurden in der Reihe wegen Mangel von Material nicht gemacht.

### Dritte Versuchsreihe.

Die Milch stammte von einer anderen Kuh, als die der vorigen Versuche. Das Casein wurde rein dargestellt und aschenfrei gefunden. Ein Theil davon wurde in 0,1 % Salzsäure, ein anderer in Natronlauge gelöst.

Um den Gehalt der Salzsäure-Caseinlösung an Casein zu bestimmen, wurden 50 ccm. davon abgedampft, getrocknet und gewogen. Es wog das Casein 3,0018 gr., es wurde verbrannt und der Phosphor auf 0,675 % bestimmt.

Um den Caseingehalt der NatronlaugeLösung festzustellen, wurden 40 ccm. davon abgedampft, getrocknet und gewogen, sie gaben 2,3997 gr. Casein, welches verbrannt sich als 0,7145 % phosphorhaltig erwies.

Nachdem die Lösungen bekannt waren, wurden mit der Salzsäurelösung ein Versuch, mit der NatronlaugeLösung zwei Versuche angestellt.

Versuch A. 50 ccm. der 3,0018 gr. enthaltenden Caseinlösung wurden mit 5 ccm. einer 10 proc. Pepsinlösung versetzt und mehrere Tage (14 Tage) der Verdauung überlassen, um den Einfluss der Dauer der Verdauung zu beobachten. Das Nuclein wurde nach dem gewöhnlichen Verfahren getrocknet und gewogen, es betrug 0,1082 gr. Das Filtrat abgedampft und getrocknet hinterliess einen Rückstand, welcher 2,8296 gr. wog. Im Filtrat wurde der Phosphor zwei Mal bestimmt. Die eine Bestimmung wurde an der Probe gemacht, die unmittelbar nach dem Filtriren des Nucleins gewonnen wurde. Die andere Probe stammte von dem Rückstand des Waschwassers, mit welchem das Nuclein gewaschen wurde. Es sollte somit entschieden werden, ob das Nuclein Phosphor abgibt, was natürlich den Waschwasserrückstand phosphorreicher

machen würde. Es war dies nicht der Fall, somit geht durch das Waschen kein Nuclein verloren.

50 ccm. Caseinlösung 3,0018 Casein von 0,675 % P gibt 0,020262 gr. Pe.  
 0,1082 Nuclein » 3,869 » » » 0,004186 » Pn.  
 0,5 Pepsin » 0,365 » » » 0,001825 » Pp.  
 2,8296 Filtrat » 0,6306 » » » 0,017340 » Pf.

Das Nuclein betrug 3,604 % des Caseins.

Der Pn » 20,66 » » Pc.

Das Verhältniss des Pc zu Pn ist 4,84 : 1.

» » » Pf zu Pn » 3,7052 : 1.

0,0628 gr. Nuclein gaben 0,0087  $M_2P_2O_7$  entspr. 3,869 % Pn.  
 1,8033 » Filtrat » 0,0419 » » 0,6487 » Pf.  
 0,9840 » » » 0,0216 » » 0,6125 » Pf.  
 3,0018 » HCl-Lösung 0,0726 » » 0,675 » Pc.  
 2,3997 » NaOH-Casein 0,0614 » » 0,7145 » Pc.

Versuch B. 50 ccm. Caseinnatronauflösung, welche 2,9996 gr. Casein enthielten, wurden mit 5 ccm. 10 proc. Pepsinlösung versetzt und mit Essigsäure ausgefällt. Das Filtrat mit dem Waschwasser gab einen Rückstand, der 0,7092 gr. wog. Das Pepsin-Casein in Salzsäure gelöst, wurde 10 Tage lang der Verdauung überlassen. Das nach der Zeit abgeschiedene Nuclein wurde getrocknet und gewogen, es wog 0,2001 gr. Das Filtrat wurde abgedampft, getrocknet und der Rückstand gewogen. Er betrug 2,9317 gr.

50 ccm. Caseinlösung = 2,9996 gr. Casein entspr. 0,021432 gr. Pe.  
 = 0,5 » Pepsin » 0,001825 » Pp.  
 = 0,7092 » Filtr. I. » 0,005597 » Pf.  
 = 0,2001 » Nuclein » 0,006259 » Pn.  
 = 2,0916 » | Filtr. II. » 0,015694 » Pf.,  
 = 0,8404 » |

Das Nuclein betrug 6,6708 % des Casein.

Der Pn » 29,204 » » Pn.

Das Verhältniss des Pc zu Pn ist 3,42 : 1.

» » » Pf, zu Pn » 2,507 : 1.

0,7092 gr. Filtr. I gaben 0,0200  $M_2P_2O_7$  entspr. 0,7875 % Pf.,  
 0,1491 » Nuclein » 0,0167 » » 3,1281 » Pn.  
 0,8401 » Filtr. II » 0,0196 » » 0,6515 » Pf.,  
 2,0916 » » » 0,0401 » » 0,4887 » Pf.,

Versuch C. 50 ccm. einer Caseinnatronlauge, die genau der im vorigen Versuche gleich war, wurden mit 0,5 gr. Pepsin versetzt und mit Essigsäure ausgefällt. Das I. Filtrat und Waschwasser enthielt 0,5987 gr. feste Substanz. Das Caseinpepsin wurde mit Hülfe 0,1 proc. Salzsäure in Lösung gebracht und 7 Tage der Verdauung überlassen. Das ausgeschiedene Nuclein wog gewaschen und getrocknet 0,2492 gr. Das Filtrat II wurde abgedampft und getrocknet. Der bei 110° getrocknete Rückstand wog 2,9864 gr.

50 ccm. Caseinlösung	=	2,9996 gr. Casein	0,7145 % P.	entspr.	0,021432 Pf.
	=	0,5987 » Filtr. I	0,3731 » » »		0,002234 Pf.
	=	0,5 » Pepsin	0,365 » » »		0,001829 Pf.
	=	0,2492 » Nucl.	2,6969 » » »		0,0067267 Pf.
	=	2,9864 » Filt. II	{ 0,5623 » » } »		0,0099308 Pf.
			{ 0,3442 » » }		

Das Nuclein betrug 8,308 % des Caseins.

Der Pn » 31,31 » » Pe.

Das Verhältniss des Pc zu Pn war 3,189.

» » » Pf., » Pn » 1,512.

0,5987 gr. Filtr. I 0,0080  $M_2P_2O_6$  entspr. 0,3731 % Pf.

0,1574 » Nuclein 0,0152 » » 2,6969 » Pn.

0,9982 » Filtr. II 0,0201 » » 0,5623 » Pf.,

1,9882 » » 0,0245 » » 0,3442 » Pf.,

#### Vierte Versuchsreihe.

Diese Versuchsreihe wurde an einem käuflichen Casein dargestellt, welches stark aschenhaltig war, was sich leider zu spät herausstellte. Es war das ein Präparat von E. Merck in Darmstadt. Es enthielt 5,988 % Asche, wovon 1,118 % Phosphor war. Der hohe Phosphorgehalt hatte auf die Zusammensetzung des Nucleins keinen wesentlichen Einfluss. Dagegen waren die Filtrate phosphorreicher, welchem Umstand Rechnung getragen werden musste. Es wurde also sowohl vom Caseinphosphor wie von dem Filtratphosphor diejenige Phosphormenge abgezogen, welche der Asche entsprach; oder was sich als richtiger erwies: es wurde das Casein als rein berechnet, wobei 0,8 % Phosphor angenommen wurde. Das Uebrige, was das Casein an Phosphor enthielt, wurde als

Aschenphosphor betrachtet. Da das käufliche Casein ausserordentlich schwer zu lösen war, so benutzten wir die Gelegenheit, den Einfluss der Verdünnung auf die Verdauung zu beobachten, indem sämtliche Flüssigkeiten, sowohl die Salzsäurecaseinlösung wie die Natronlaugelösung, wenig festes Casein enthielten. Die erste unter 1%, die zweite unter 2%.

Die Salzsäurecaseinlösung wurde auf ihren Gehalt an Casein wie üblich geprüft, indem 50 ccm. abgedampft und getrocknet einen Rückstand gaben, der gewogen wurde, um darnach zur Phosphorbestimmung zu dienen. Ebenso war die Concentration der Natronlaugelösung bestimmt und ihr Phosphorgehalt festgestellt. —

Versuch A. 500 ccm. einer 0,7507 proc. Caseinsäurelösung und 250 ccm. einer 0,6076 proc. wurden zusammen gebracht, mit 15 ccm. einer 10 proc. Pepsinlösung versetzt und bei 40% während 5 Tagen der Verdauung überlassen. Nach der Zeit wurde das Nuclein abfiltrirt, gewaschen und nach dem Trocknen gewogen. Es betrug 0,0695 gr. Das Filtrat wurde auf Phosphor analysirt und zwar hat man den Phosphor direct mit Magnesiamixtur auszufällen versucht, ohne das Filtrat zu trocknen und nach dem Trocknen im Silbertiegel nach Liebig zu verbrennen. Das directe Ausfällen gelang sehr gut, denn eine gleiche Probe des Filtrates nach üblicher Methode verbrannt ergab die gleichen Resultate. Dies wurde zwei Mal mit demselben Erfolge gemacht.

	500 ccm. Caseinlös. = 3,7535 gr. Casein	}	2,457 % P	entsp. 0,141545 P.
	250 » » = 1,5191 » »			
	750 » » = 5,2725 » »		0,8 » » »	0,042180 Pc.
	10 » Pepsinlös. = 1,0 » Pepsin		0,365 » » »	0,00365 Pp.
a)	200 » Filtr. getrockn. 2,8606 » Filtr.		3,755 » » »	0,107415 Pf <sup>1)</sup>
	100 » » direct. gefällt		3,280 » » »	0,046903 »
b)	100 » » » »		1,3405 » » »	0,028194 »
	100 » » getrockn. = 1,0982 » »		1,668 » » »	0,018318 »
	100 » » = 0,0695 » Nuclein		4,098 » » »	0,0028481 Pn.

Das Nuclein betrug 1,293% des Caseins.

Der Pn » 6,75 » » Pc.

Das Verhältniss des Pc zu Pn war 14,81 : 1.

» » » Pf » Pn » 12,97 : 1.

<sup>1)</sup> a) und b) sind verschiedene Filtrate.

1,1662 gr. Casein	ergab	0,1026 $M_2P_2O_7$	entspr.	2,457 % P.
0,0695 » Nuclein	»	0,0102 »	»	4,092 » Pn.
2,8606 » Filtr.	»	0,3846 »	»	3,755 » Pf.
1,4303 »	»	0,1503 »	»	3,280 » »
1,0982 »	»	0,0656 »	»	1,668 » »
1,3576 »	»	0,0652 »	»	1,3405 » »

Versuch B. 600 ccm. einer 0,4468 proc. salzsauren Caseinlösung wurden mit 10 ccm. einer 10 proc. Pepsinlösung versetzt und nach 24 Stunden filtrirt. Das Nuclein wurde gewaschen und bei  $110^\circ$  getrocknet. Es wog 0,1246 gr. Das Filtrat wurde auch hier in einer Portion abgedampft, getrocknet und der Rückstand auf Phosphorgehalt geprüft. In der anderen, die genau abgemessen wurde, war der Phosphor direct mit Magnesiamixtur ausgefällt. Die Fällung war unvollständig und konnte zur quantitativen Phosphorbestimmung nicht dienen. Das Filtrat wurde daher sammt dem Waschwasser getrocknet und der Rückstand gewogen. Es betrug 3,3756 gr.

600 ccm. Caseinlösung	=	2,6808 Casein	mit	2,457 % P	entspr.	0,065867 P.
	=	2,6808 »	»	0,8 »	»	0,021446 Pe.
	=	1,0 Peps.	»	0,365 »	»	0,00365 Pp.
	=	3,3756 Filtr.	»	1,8434 »	»	0,062212 Pf.
	=	0,1246 Nuclein	»	3,147 »	»	0,003903 Pn.

Das Nuclein betrug 4,648 % des Casein.

Der Pn » 18,20 » » Pn.

Das Verhältniss des Pe zu Pn ist 5,49 : 1.

» » » Pf » » » 4,55 : 1.

0,1180 gr. Nuclein	gab	0,0133 $Mg_2P_2O_7$	entspr.	3,147 % Pf.
1,6878 » Filtr.	»	0,1144 »	»	1,8434 » Pf.

Versuch C. 300 ccm. einer 1,8228 proc. Natronlaugecaseinlösung wurden mit 10 ccm. einer 10 proc. Pepsinlösung versetzt und mit Essigsäure ausgefällt. Die Fällung war recht unvollständig gerathen, so dass viel Casein in Lösung blieb und ins erste Filtrat überging. Das gefällte Casein wurde in 0,1 % Salzsäure gelöst und 7 Tage der Verdauung bei  $40^\circ$  überlassen. Trotz der grossen Verdünnung ging das gebildete Nuclein nicht in Lösung und konnte nach 7 Tagen abfiltrirt werden. Gewaschen und getrocknet wog es 0,0362 gr. Das Filtrat wurde auch hier mit Magnesia-

mixtur ausgefällt, andererseits wurde ein ebenso grosses Volum davon abgedampft, getrocknet, gewogen und verbrannt. Sie zeigte einen Gehalt an Phosphor, der dem der ersten Probe gleich war. Das gesammte Filtrat gab einen Rückstand, der bei 110° getrocknet 1,6641 gr. wog.

300 chem. Caseinlösung	= 5,4684 gr. Casein	2,021 ‰ P entspr.	0,110515 P.
Verdaut wurden	0,7294 »	0,8 » » »	0,005835 Pc.
Filtrat I	= 5,639 »	Filtr. I 1,946 » » »	0,109725 Pf.
	= 1,0 »	Pepsin 0,365 » » »	0,00365 Pp.
Filtrat II	= 1,1745 »	Filtr. II 0,1169 »	0,0019591 Pf.,
	= 0,4896 »	» 0,1197 »	
Nuclein	= 0,0362 »	Nucl. 6,868 » » »	0,002485 Pn <sup>1)</sup> .

Das Nuclein betrug 5,962 ‰ des Caseins.

Der Pn » 42,605 » » Pc.

Das Verhältniss des Pc zu Pn war 2,34 : 1.

» » » Pf., » » » 0,788 : 1.

1,6996 gr. Casein	ergab 0,1230 Mg <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	entspr. 2,021 ‰ P.
5,639 » Filtr. I	» 0,3930 »	» 1,946 » Pf.
0,4896 » Filtr. II	» 0,0021 »	» 0,1197 » »
1,1745 » »	» 0,0045 »	» 0,1169 » »

Versuch D. 500 cbcm. einer 1,8228 proc. Natronlauge-caseinlösung wurden mit 10 cbcm. einer 10 proc. Pepsinlösung versetzt und mit Essigsäure ausgefällt. Das erste Filtrat hinterliess nach dem Abdampfen und Trocknen 2,0576 feste Stoffe. Das ausgefällte Casein wurde mit Salzsäure gelöst und während 5 Tagen verdaut. Das abfiltrirte Nuclein wog gewaschen und getrocknet 0,6740 gr. Das Filtrat wurde zum Theil direct ausgefällt, zum Theil getrocknet und verbrannt. Der Gehalt an Phosphor auf die beiden Arten gefunden war identisch. Das gesammte Filtrat II gab einen Rückstand, dessen Gewicht nach dem Trocknen 6,2183 gr. betrug.

500 chem. Caseinlös.	= 9,114 gr. Casein	2,021 ‰ P entspr.	0,184193 Pp.
	= 1,0 »	Pepsin 0,365 » » »	0,003650 Pp.
	= 2,0576 »	Filtr. I 4,811 » » »	0,098991 Pc.
Verdaut wurde	8,0564 »	Casein 3,435 » » »	0,088852 Pn.
	0,6740 »	Nucl. 3,435 » » »	0,0231519 Pn.
	3,8746 »	Filtr. II 0,5355 » »	0,0324761 Pf.,
	2,3437 »	» 0,5005 » »	

<sup>1)</sup> Berechnet.

Das Nuclein betrug 8,37 % des Caseins.

» Pn » 26,17 » » Pc.

Das Verhältniss des Pc zu Pn war 3,83 : 1.

» » » Pf » Pn » 1,402 : 1.

2,0576 gr. Filtrat I.	0,3545 Mg <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	entspr. 4,811 % P.
0,2195 » Nuclein	0,0270 »	» 3,435 » P.
3,8746 » Filtr. II	0,0743 »	» 0,5355 » P.

### Fünfte Versuchsreihe.

In dieser Reihe wurden grössere Mengen von Casein in Arbeit genommen, um an dem Nuclein Controlversuche ausführen zu können, was in den früheren Versuchen wegen Materialmangel unterlassen werden musste.

Das Casein wurde rein dargestellt und nachdem es aschenfrei befunden war, in Arbeit genommen. Ein Theil davon wurde in schwacher Natronlauge, ein anderer in 0,1 % Salzsäure gelöst.

50 cbcm. der NatronlaugeLösung wurden abgedampft und bei 110° getrocknet. Der Rückstand wog 4,2252 gr. und zeigte einen Gehalt an Phosphor von 0,80637 %.

50 cbcm. der Salzsäurecaseinlösung hinterliessen nach dem Abdampfen und Trocknen 1,75658 gr. Casein, welches einen Phosphorgehalt von 0,75307 % hatte.

Das Mittel aus 0,80637 und 0,75307 % wurde als der Phosphorgehalt des Caseins in Rechnung gebracht.

Versuch A. 400 cbcm. der 8,4504 proc. CaseinnatronlaugeLösung wurden mit 1,5 gr. Pepsin versetzt und mit Essigsäure ausgefällt. Das erste Filtrat hinterliess nach dem Abdampfen und Trocknen 2,5543 gr. feste Stoffe. Das Caseinpepsin wurde in 0,1 % Salzsäure gelöst und der Verdauung überlassen. Sowie sich das Nuclein auszuschcheiden begann, wurde es abfiltrirt. Die Verdauung dauerte 48 Stunden. Das Nuclein wog gewaschen und getrocknet 5,3933 gr. Das Filtrat wurde zu mehrfachen Phosphorbestimmungen verwendet. Direct liess sich der Phosphor nicht ausfällen. Die Summe der festen Stoffe, die durch Abdampfen des Filtrats II gewonnen wurde, betrug 27,3222 gr.

400 ccm. Caseinlösung	=	33,8011 gr.	von	0,7795 %	P.	entspr.	0,263484 gr.	Pc.
Pepsin	=	1,5	»	»	0,263	»	»	0,003945 » Pp.
Filtrat I	=	2,5543	»	»	0,6216	»	»	0,015878 » Pf.
Nuclein	=	5,3933	»	»	2,0757	»	»	0,111948 » »
Filtrat II	=	27,3222	»	»	0,6293	»	»	0,171939 » »

Das Nuclein betrug 16,48 % des zur Verdauung kommenden Caseins.  
Pn » 44,504 » » Pc.

Das Verhältniss des Pc zu Pn war 2,24 : 1.

» » » Pf, » Pn » 1,536 : 1.

50 ccm. Natronlauge-Casein = 4,2252 gr. gaben 0,80637 % Pc.

50 ccm. Salzsäure-Casein = 1,7565 » » 0,75307 » »

1,8725 Nuclein	0,1362	Mg <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	entspr.	2,0216 %	Pn	} Mittel 2,0757 % Pn.
1,4250 »	0,1031	»	»	2,1297	»	
7,8074 Filtr. II	0,2035	»	»	0,7660	»	} Mittel 0,6293 % Pf.
8,1567 »	0,1266	»	»	0,6037	»	
5,0311 »	0,1121	»	»	0,5439	»	

Versuch B. 400 ccm. von derselben Caseinnatronlauge-  
lösung, die für den Versuch A verwendet wurde, wurde  
mit 1,5 gr. Pepsin versetzt und ausgefällt. Das erste Filtrat  
gab abgedampft 2,639 gr. feste Stoffe. Das Pepsincasein wurde  
in 0,1 % Salzsäure gelöst und 9 mal 24 Stunden der Ver-  
dauung ausgesetzt. Nach der Verdauung wurde das Nuclein  
gewaschen und getrocknet. Sein Gewicht war 5,9374 gr.  
Das Filtrat hinterliess nach dem Abdampfen und Trocknen  
einen Rückstand, der 27,3897 gr. wog. Trotz der langen  
Dauer der Verdauung war im Filtrat der Phosphor  
direct durch Magnesiamischung nicht ausfällbar.

33,8016 gr. Casein = 0,7795 % P entspr. 0,263484 gr. Pc.

1,5 » Pepsin = 0,263 » » » 0,003945 » »

2,639 » Filtr. I = 0,4138 » » » 0,010920 » Pf.

27,3897 » Filtr. II = 0,4402 » » » 0,120567 » Pf.

5,9374 » Nucl. = 2,2721 » » » 0,134904 » Pn.

Das Nuclein betrug 18,17 % des Casein.

» Pn » 52,59 » » Pn.

Das Verhältniss des Pc zu Pn war 1,945.

» » » Pf » Pn » 0,898.

1,4296 Nuclein	0,1175	Mg <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	entspr.	2,2954 %	Pn	} Mittel 2,2721 % Pn.
1,4121 »	0,1137	»	»	2,2437	»	
5,5191 Filtr. II	0,1072	»	»	0,5424	»	} Mittel 0,4402 % Pf.
5,7487 »	0,0931	»	»	0,4522	»	
				0,4261	»	

Versuch C. 900 ccm. einer 3,51316 proc. Salzsäure-Caseinlösung wurden mit 2,0 gr. Pepsin versetzt und während 10 Tagen im Brütöfen der Verdauung überlassen. Trotz der langen Dauer der Verdauung hat das Nuclein nicht besonders viel an Gewicht verloren, gegenüber dem Nuclein im nächsten Versuche, was wohl dafür spricht, dass zu der Nucleinverdauung als wichtiger Factor die Verdünnung nöthig ist, dagegen lassen sich auch in der concentrirten Lösung mit der Zeit deutliche Zeichen der Gewichtsabnahme des Nucleins nicht verkennen. Das Nuclein wog getrocknet und gewaschen 5,6875 gr. Das Filtrat gab mit Magnesiamixtur keinen bedeutenden Niederschlag, auch für die Ausfällbarkeit des Phosphors durch directes Zusetzen von Magnesia scheint die Concentration hemmend zu wirken. Das gesammte Filtrat gab beim Trocknen einen Rückstand, welcher 28,0457 gr. wog.

900 ccm. Caseinlös. 3,51316	=	31,61844 gr. Cas.	0,7795 %	entsp.	0,246489 Pc.
2,0	»	Peps. 0,263	»	»	0,005260 Pp.
28,0457	»	Filtr. 0,4597	»	»	0,128926 Pf.
5,6875	»	Nucl. 2,4437	»	»	0,138984 Pn.

Das Nuclein betrug 17,99 % des Caseins.  
 » Pn » 56,406 » » Pc.

Das Verhältniss des Pc zu Pn war 1,7735.  
 » » » Pf » Pn » 0,928.

1,2327 gr. Nuclein	0,1027	Mg <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	entspr.	2,3267 %	Pn	} Mittel 2,4457 % Pn.
2,0013 »	»	0,1855	»	»	2,5607 »	
4,6292 » Filtrat	0,0703	»	»	»	0,4240 » Pf	} Mittel 0,4597 % Pf.
6,2841 »	»	0,0915	»	»	0,4066 »	
5,7129 »	»	0,1114	»	»	0,5447 »	
					0,4637 »	

Versuch D. 900 ccm. der gleichen Salzsäurecaseinlösung wurden mit 1 gr. Pepsin versetzt und sofort nach dem Abscheiden des Nucleins filtrirt. Die Verdauung dauerte hier 24 Stunden. Das Nuclein wog getrocknet und gewaschen 6,7021 gr. Das Filtrat gab beim Abdampfen einen Rückstand, der 26,1424 gr. betrug. Es war hier absichtlich wenig Pepsin zugesetzt gegenüber dem Versuche C, um die Wirkung des Fermentes auf den Phosphorgehalt des Nucleins zu studiren.

31,6184 gr. Casein	0,7795 %	P entspr.	0,246489	Pc.
1 » Pepsin	0,263 »	» »	0,002630	Pp.
26,1424 » Filtr.	0,4409 »	» »	0,0042618	Pf.
6,7021 » Nucl.	2,325 »	» »	0,155823	Pn.

Das Nuclein betrug 21,1 % des Caseins.

» Pn » 63,21 » » Pc.

Das Verhältniss des Pc zu Pn war 1,581 : 1.

» » » Pf » Pn » 0,669 : 1.

1,1109 gr. Nuclein	gab 0,0926 gr. $Mg_2P_2O_7$	entsp. 2,3271 %	Mittel 2,325 %
2,1778 » »	» 0,1815 »	» 2,3229 »	
7,2102 » Filtratrückst.	0,1111 »	» 0,4323 »	Mittel 0,4409 %
8,0651 » »	0,1285 »	» 0,4498 »	

### Schlussfolgerungen.

Durch diese Versuche war es also vor Allem bewiesen, dass das Casein nicht allen Phosphor in Form von Nuclein enthält, denn von dem Caseinphosphor sind wechselnde Mengen von 6—60% im Nuclein enthalten, jedoch nie der gesammte Phosphor. Man kann wohl annehmen, dass das Nuclein von Anfang an nicht den ganzen Phosphor des Caseins enthält, denn bei der kürzesten Verdauungszeit (24 Stunden) findet man nur 18% des Caseinphosphors an Nuclein gebunden. Die kleinste Menge des an Nuclein gebundenen Phosphors, 6,75%, wurde bei einer verdünnten 07 proc. Caseinlösung nach 5 Tagen Verdauung erhalten. Die höchste 63,21% bei einer Concentration von 3,5% Caseinlösung und Verdauungszeit 2 Tage. (Es soll damit nicht gesagt sein, dass bei sonst gleichen Umständen die Dauer der Verdauung nicht den Phosphorgehalt des Nucleins herabsetzen soll.) Das Casein kann ja organisch gebundenen Phosphor haben, der nicht an Nuclein gebunden ist. So ist das Frauencasein nucleinfrei, obgleich phosphorhaltig. Es gibt wenigstens keinen Nuclein-niederschlag bei der Verdauung, wie ich mich an einem Präparat des Herrn Dr. Wróblewski, der im Laboratorium des Herrn Prof. Drechsel über Frauencasein gearbeitet hat, überzeugt habe. Es ist sehr wahrscheinlich, dass ein Theil des Phosphors in dieser löslichen Form im Casein präformirt ist. In der Arbeit des Frl. Cl. Willdenow<sup>1)</sup> findet man

<sup>1)</sup> Cl. Willdenow, l. c.

einen Versuch, welcher ein gewisses Licht auf die Art der Bindung des Phosphors an Nuclein zu werfen scheint. Es wurden gleiche Volume einer Lösung von Paranucleinsäure, aus Casein mit Essigsäure für sich und mit Essigsäure nach Zusatz von Ovalbumin ausgefällt. — Im letzteren Falle betrug die Menge des Niederschlages doppelt so viel wie im ersteren. Es ist hiernach wohl möglich, dass diese Nucleinsäure, nachdem sie vom Casein abgespalten ist, eine gewisse Eiweissmenge auszufällen vormag. Die ausgefallte Menge mag je nach der Concentration der Lösung etc. verschieden sein. Nun kann infolge der Verdauung ein Theil des gefällten Eiweisses wieder in Lösung gehen, wodurch die ungelöst bleibende Nucleinsäure (bezw. deren Verbindung mit weniger Eiweiss oder ihre Mischung mit noch unangegriffenem ursprünglichen Niederschlage) immer reicher an Phosphor wird, was mit Lubavin's, Szontagh's und meinen Beobachtungen übereinstimmt. Es ist wahrscheinlich, dass die Nucleinsäure ein phosphorhaltiges Eiweiss niederschlägt, infolge davon beim Verdauen Phosphor in Lösung geht und den sogenannten Filtratphosphor Pf vergrössert. Es ist bei meinen Versuchen zu beobachten gewesen, dass bei längerer Verdauung das Verhältniss des Pf zu Pn grösser wurde.

Sowohl bei den Versuchen, die im Laboratorium des Herrn Prof. Drechsel von Herrn Dr. Wróblewski angestellt wurden, wie auch aus denjenigen von Szontagh und den meinigen geht hervor, dass das Kuhnuclein auch bei lang fortgesetzter Verdauung nicht vollständig in Lösung geht. Ich kann somit der Meinung von Salkowski<sup>1)</sup> nicht beistimmen, dagegen ist ein entscheidender Einfluss sowohl der Dauer der Verdauung als besonders der Verdünnung auf das Nuclein zu verzeichnen. Bei einer sehr verdünnten Lösung ist die Nucleinmenge von vornherein sehr gering und sehr phosphorreich. Bei längerer Dauer der Verdauung unter diesen Umständen fällt die Nucleinmenge und der Phosphorgehalt steigt entsprechend. Bei einer concentrirten Lösung fällt das

<sup>1)</sup> Salkowski, l. c.

Nuclein in grossen Mengen aus und verliert bei der Verdauung — auch bei der protrahirten — wenig Phosphor. Dieses Verhalten, welches bei den Versuchen sehr deutlich zu Tage tritt, würde nach meiner Ansicht für die Theorie des Ausfällens eines Eiweisskörpers (unveränderten Casein oder Caseosen) durch Nucleinsäure sprechen. Wenn nämlich ein präformirter Nucleinkern im Casein vorhanden wäre, so sehe ich nicht ein, warum das Nuclein so wenig vom Caseinphosphor enthält, obgleich es nur (wie z. B. B in IV. Reihe) 24 Stunden verdaut wurde, wenn es in anderen Versuchen bei längerem Verdauen mehr davon enthielt.

In der Verdauungsflüssigkeit ist der Phosphor direct durch Magnesiamixtur ausfällbar, aber nur bei einer längeren Verdauungsdauer und bei grösserer Verdünnung<sup>1)</sup>. Die Verdünnung spielt auch hier eine grössere Rolle als die Pepsinmenge und die Verdauungsdauer. Bei einer gewissen Verdünnung ist die Verdauungsdauer massgebend. So war bei gleicher Concentration der Lösung der Phosphor in der Verdauungsflüssigkeit nach 24 Stunden nicht ausfällbar, wohl aber nach 5 Tagen. Andererseits war bei starker Concentration auch nach 10 Tagen der Phosphor nicht direct fällbar. Die Meinung, welche Salkowski<sup>2)</sup> äussert, dass im Filtrate vom Nuclein der Phosphor direct nicht ausfällbar sei, ist also nur unter gewissen Umständen richtig. Der Niederschlag, welcher durch Magnesiamixtur und Ammoniak im Filtrat entstand, war deutlich krystallinisch, verlor beim Glühen etwa 33% seines ursprünglichen Gewichtes und wurde schwarz, dann beim weiteren Glühen weiss, wie sonst pyrophosphorsaure Magnesia, als welches es gewogen und in Rechnung gezogen wurde.

<sup>1)</sup> Folgende Zahlen beweisen die vollständige Fällbarkeit des P in der Verdauungsflüssigkeit: 1,169%, 1,3405%, 3,280%, 0,5004% nach Liebig bestimmt. 1,196%, 1,668%, 3,755%, 0,5355% direct durch Magnesiamixtur ausgefällt.

<sup>2)</sup> Salkowski, l. c.

Nummer des Versuches.	Concentration der Caseinlösung.	Verdauungsdauer.	Caseinmenge in gr.	Pepsinmenge in gr.	Nucleinmenge auf 100 gr. Casein.	Nuclein-phosphor auf 100 gr. Casein.	Caseinphosphor des Nucleins an Phosphor.	$\frac{Pc}{Pn}$	$\frac{Pn}{Pf} \cdot \frac{Pf}{Pn}$	$\frac{Pc}{Pn} \cdot \frac{Pn}{Pf} \cdot \frac{Pf}{Pn}$
I.	4%	8 Tage	14,26	0,44	13,60	34,20	2,10	2,80	1,58	1,8
II.	4%	5 Tage	8,15	1,38	14,72	37,50	2,40	2,60	1,58	1,7
III.	4%	3 Tage	10,19	1,39	17,40	44,20	2,19	2,16	1,27	1,7
I.	4%	2 Tage	3,5	0,5	14,84	50,54	0,88	1,98	1,76	1,1
I.	6%	14 Tage	3,00	0,5	3,60	20,66	3,87	4,84	3,71	1,3
II.	6%	10 Tage	3,00	0,5	6,67	29,20	3,13	3,42	2,51	1,3
III.	6%	7 Tage	3,00	0,5	8,31	31,31	2,70	3,19	1,51	2,0
I.	0,7%	5 Tage	5,27	1,0	1,29	6,75	4,10	14,81	12,97	1,1
II.	0,7%	1 Tag	2,68	1,0	4,64	18,20	3,15	5,49	4,55	1,2
III.	1,44%	7 Tage	5,46	1,0	5,96	42,61	6,86	2,34	0,79	2,9
IV.	1,44%	5 Tage	9,11	1,0	8,37	26,17	3,43	3,83	1,40	2,7
I.	3,45%	2 Tage	33,80	1,5	16,48	44,51	2,08	2,24	1,53	1,4
II.	3,45%	10 Tage	33,80	1,5	18,17	52,59	2,27	1,60	0,89	1,7
III.	3,51%	10 Tage	31,61	2,0	17,99	56,40	2,44	1,77	0,93	1,8
IV.	3,51%	2 Tage	31,61	1,0	21,10	63,21	2,82	1,58	0,67	2,2

I. Reihe.

II. Reihe.

III. Reihe.

IV. Reihe (zusammen  
ebenso wie I u. 2).

V. Reihe.

Es sei mir erlaubt, an dieser Stelle dem Herrn Prof. Dr. E. Drechsel für die Anregung und die Rathschläge, die er mir während meiner Arbeit gegeben hat, meinen tiefsten Dank auszusprechen. Meinem Chef, dem Herrn Prof. Dr. H. Eichhorst, in dessen chemischem Laboratorium ich die Arbeit ausgeführt habe, danke ich aufs Wärmste für die Gunst, mit welcher er mir das Laboratorium zur Verfügung gestellt hatte.

Chemisches Laboratorium der medicinischen Klinik  
Zürich-Fluntern, 1894.

---