

# **Eine neue Methode zur Bestimmung der Pepsinwirkung.**

Von

**E. I. Spriggs,**

Gull Research Student of Guy's Hospital, London.

**Mit neun Abbildungen.**

---

(Aus dem physiologischen Institut in Heidelberg.)

(Der Redaction zugegangen am 29. März 1902.)

---

1. Einleitung.
2. Arbeitsmethode.
3. Versuche.
4. Wirkung der Salzsäure ohne Pepsin.
5. Wirkung von Pepsin und Salzsäure.
6. Vergleich der Curven, die durch Behandeln von Syntoninlösung mit verschiedenen Pepsinmengen erhalten wurden.
7. Bemerkung des Mr. Wade.
8. Zusammenfassung.

## **1. Einleitung.**

Die Geschwindigkeit der Eiweissverdauung wird gewöhnlich durch die Menge festes Eiweiss gemessen, die unter der Einwirkung des betreffenden Fermentes in Lösung geht.<sup>1)</sup> Die polarimetrische Methode, von Schütz und Huppert<sup>2)</sup> angegeben, ist gewiss für Eiweiss in Lösung zulässig, ebenso wie die spektrophotometrische Methode von Klug:<sup>3)</sup> aber da in diesen beiden die Anfangsprodukte der Verdauung zunächst

---

1) Wie in den bekannten Methoden von Bidder und Schmidt, Grünhagen, Grützner und Mett.

2) Pflüger's Archiv, Bd. 80, S. 470. 1900.

3) Ungarisches Archiv f. Medicin, Bd. 3, S. 87. 1895.

entfernt werden müssen, so bilden sie kein Mittel, um dauernd die Umänderung zu verfolgen. Es wurde nun der Verfasser von Herrn Prof. Kossel darauf aufmerksam gemacht, dass der Fortschritt der Verdauung in einer Eiweisslösung mit einer Aenderung der Viskosität der Flüssigkeit verbunden sein müsse, und dass solch eine Aenderung Daten liefern könne, durch die der Vorgang ohne mühsame chemische Handgriffe zu bestimmen sei.

Die folgende Untersuchung wurde in dieser Absicht im physiologischen Institut zu Heidelberg ausgeführt, und es ist dem Verfasser Vergnügen und Pflicht, hier dem Herrn Prof. Kossel seinen besten Dank abzustatten für die Benutzung des Laboratoriums, für sein stetes Interesse und für die mannigfaltigen Rathschläge und Anregungen, die er von ihm im Laufe der Untersuchung erhalten hat.

Die Viskosität von Eiweisslösungen ist bis auf die des Blutes wenig untersucht.<sup>1)</sup> Ueber den Gegenstand gearbeitet hat nur Bottazzi,<sup>2)</sup> der verschiedene physiologische Flüssigkeiten untersuchte und vergleichende Bestimmungen ihrer Viskosität machte. Er hat unter Anderem gezeigt, dass eine Peptonlösung weniger viskös ist als eine gleich starke Caseinlösung.

## 2. Arbeitsmethode.

### Beschreibung des Apparates.

Die Viskosität der zu verdauenden Flüssigkeit wurde im Ostwald'schen Viskosimeter<sup>3)</sup> gemessen: die Form des Apparates entsprach der von Hirsch und Beck<sup>4)</sup> zur Bestimmung der Viskosität des menschlichen Blutes benutzten.

<sup>1)</sup> Die Litteratur über Blutviskosität findet man bei Hürthle, Pflüger's Archiv, Bd. 82, S. 415. Ebenso: Trommsdorf, Archiv f. exp. Path. u. Pharmak., Bd. 45, S. 66. und Hirsch und Beck, Münch. med. Wochenschrift 1900, S. 1685; A. Meyer, Comptes rendus hebdomadaires de la société de Biologie, t. LIV, 1902, p. 365.

<sup>2)</sup> Arch. ital. de Biol., t. 29, p. 401.

<sup>3)</sup> Ostwald, Phys.-chem. Messungen. Die benutzten Viskosimeter waren von L. Desaga, Heidelberg, angefertigt.

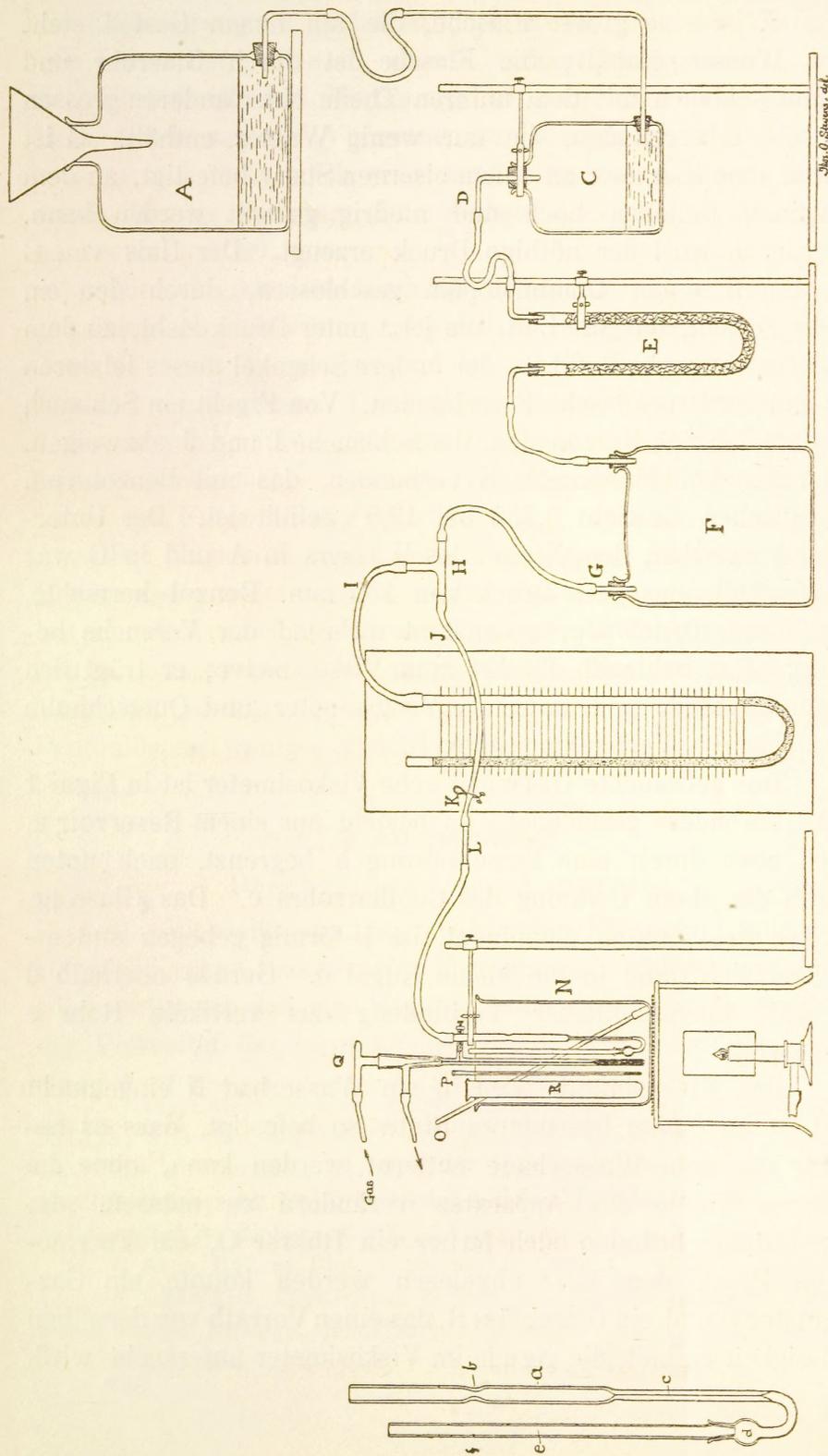
<sup>4)</sup> loc. cit.

Figur 1 zeigt die Versuchsanordnung.

A ist eine grosse Flasche, die auf einem Gestell steht und Wasser enthält: die Flasche ist durch Glasrohr und Gummischlauch mit dem unteren Theile einer anderen grossen Flasche C verbunden, die nur wenig Wasser enthält. C ist durch eine Klammer an einem eisernen Stativ befestigt, an dem sie nach Belieben hoch und niedrig gestellt werden kann. Hierdurch wird der nöthige Druck erzeugt. Der Hals von C ist durch einen Gummistopfen geschlossen, durch den ein Rohr D geht, das die Luft, die jetzt unter Druck steht, zu dem Chlorcalciumrohr E führt; der andere Schenkel dieses letzteren ist mit der Druckflasche F verbunden. Von F geht ein Schlauch zu dem T-Stück H, von dem die Schläuche I und J abzweigen. I ist mit dem Manometer K verbunden, das mit Benzol vom specifischen Gewicht 0,735 bei 13,5° gefüllt ist. Der Unterschied zwischen dem Niveau des Wassers in A und in C war so gewählt, dass ein Druck von 450 mm. Benzol herrschte, und dieser Druck wurde constant während der Versuche benutzt. Der Schlauch J führt zum Viskosimeter; er trägt den Quetschhahn K und zwischen Viskosimeter und Quetschhahn das gläserne Verbindungsstück L.

Das gebrauchte Ostwald'sche Viskosimeter ist in Figur 1 links besonders gezeichnet. Es besteht aus einem Reservoir a, nach oben durch eine Einschnürung b begrenzt, nach unten durch die obere Oeffnung des Capillarrohrs c. Das Glasrohr, in das dieses unten einmündet, ist U-förmig gebogen und erweitert sich dann in die kleine Kugel d. Gerade oberhalb d ist mit eingeschliffener Verbindung das vertikale Rohr e eingesetzt.

Das Viskosimeter wird in ein Wasserbad N eingetaucht und ist an einem besonderen Stativ so befestigt, dass es beliebig aus dem Wasserbade entfernt werden kann, ohne die anderen Theile des Apparates verändern zu müssen. Im Wasserbade befinden sich ferner ein Rührer O, ein Thermometer P, auf dem  $1/10^0$  abgelesen werden konnte, ein Gasregulator Q und ein Glasgefäss R, das einen Vorrath von derselben Flüssigkeit enthält, die gerade im Viskosimeter untersucht wird.



*John A. Stevens. del.*

Fig. 1.

In den ersten Versuchen wurde ein Viskosimeter benutzt, das für Hirsch und Beck's<sup>1)</sup> Apparat bestimmt war: für dieses war die Durchflusszeit durch die Capillare unter den Bedingungen, die weiter unten beschrieben werden, 8,8 Secunden für destillirtes Wasser. Eine so rasche Durchflusszeit ist für Blut nothwendig, da die Flüssigkeitsreibung bestimmt werden muss, ehe das Blut gerinnt; für den gegenwärtigen Zweck konnte dagegen eine längere Beobachtungszeit gewählt werden, die genauere Resultate lieferte, und es wurde also auf meine Veranlassung von Desaga ein Instrument angefertigt, das für destillirtes Wasser eine Durchflusszeit von 73,1 Secunden bei 38,5° zeigte. Mit diesem sind sämmtliche unten folgenden Curven erhalten worden. Das Reservoir fasste 1,44 ccm. Flüssigkeit, die Capillare war 68 mm. lang und sein durchschnittlicher Durchmesser betrug 0,35 mm. Eine noch längere Zeit zum Durchfliessen war nicht wünschenswerth (z. B. eine halbe Stunde oder mehr, wie sie von früheren Beobachtern und von Bottazzi<sup>2)</sup> angewandt worden war), da die beobachteten Flüssigkeiten meist eine schnelle Veränderung erlitten und es von Vortheil war, die für jede einzelne Beobachtung erforderliche Zeit nicht zu lang zu machen.

### Gebrauch des Apparates.

Die früheren Beobachtungen waren bei einer Temperatur von 38,5° gemacht. Es zeigte sich jedoch später, dass es leichter war, das Wasserbad constant auf 40° zu halten, und es wurden daher, wie man sehen wird, viele der späteren Versuche bei dieser Temperatur ausgeführt.

Bei der Vornahme einer Beobachtung wurde in folgender Weise vorgegangen: Wenn die Temperatur des Wasserbades constant war, wurde das Reservoir d<sup>3)</sup> und das Rohr e mit der zu untersuchenden Flüssigkeit gefüllt und e dann auf seine Verbindung mit d aufgesetzt: die Flüssigkeit füllt dann das

1) loc. cit.

2) loc. cit.

3) s. besonders Zeichnung des Viskosimeters in Figur 1.

U-Rohr bis zur unteren Oeffnung der Capillare: es wurde immer eine solche Menge Flüssigkeit genommen, dass e bis zu derselben Höhe, bis zur Marke f, in der Höhe der Einschnürung b am anderen Schenkel des Viskosimeters, gefüllt war: diese Menge betrug bei dem benutzten Instrument knapp 3 cm. Das Viskosimeter wurde nun in das Wasserbad gesetzt und 5 Minuten gewartet, ehe eine Ablesung gemacht wurde.<sup>1)</sup> Inzwischen wurde das Glasrohr bei L vom Gummischlauch genommen und durch Ansaugen die Flüssigkeit durch die Capillare in das Reservoir und bis etwa 2 cm. über die Einschnürung b gehoben. L wird dann wieder geschlossen und das Wasser im Wasserbade durch den Rührer in Bewegung gehalten. Nach Ablauf der 5 Minuten und nachdem man noch einmal den Stand des Manometers kontrollirt hat, wird der Quetschhahn K geöffnet und die Flüssigkeit beginnt nun durch die Capillare zu fliessen. Den Zeitpunkt des Passirens des Meniskus bei der Einschnürung b markirt man an einer Uhr, die  $\frac{1}{5}$  Secunden angibt: während des Durchfliessens der Flüssigkeit durch die Capillare wird mit dem Rührer das Wasser in Bewegung gehalten, und wenn das Reservoir a fast leer ist, nimmt der Beobachter die Uhr in die eine, den Schlauch J in die andere Hand: es ist nun leicht, den Zeitpunkt zu bestimmen, wenn Luft in das obere Ende der Capillare tritt, und sobald dies geschieht, wird die Uhr arretirt und gleichzeitig der Schlauch J zgedrückt. Dies letztere geschieht, weil sonst der Druck die Flüssigkeit im Viskosimeter durch d und e hindurchtreiben würde und das Material verloren gehen würde. Die Klammer K wird jetzt wieder auf J gesetzt, L wird geöffnet und die Flüssigkeit in das Reservoir zurückgesogen: es ist bei der Untersuchung von Eiweisskörpern be-

<sup>1)</sup> Es wurde gefunden, dass bei Wasser und anderen Flüssigkeiten, deren Reibung bei einer bestimmten Temperatur unverändert blieb, die Constanz der Durchflusszeit durch die Capillare in weniger als 5 Minuten erreicht war. Nach Ablauf dieser Zeit muss also sicher Viskosimeter und Inhalt die Temperatur des Wasserbades angenommen haben. Im Verlaufe der Versuche wird man sehen, dass diese Wartezeit nicht länger, wie durchaus nothwendig, ausgedehnt werden darf.

sonders wichtig, das letztere sofort zu thun, weil sonst die Lösung an den Wänden des Capillarrohrs leicht antrocknen kann. Der Stand des Manometers und des Thermometers werden von Neuem abgelesen und sollen unverändert geblieben sein; zum Schluss wird die von der Uhr angegebene Zeit notirt.

### Angewandte Lösungen.

Die Pepsinlösungen waren aus frischen Schweinemägen gewonnen; die frei präparirte und zerkleinerte Schleimhaut wurde verschiedene Male mit Wasser gewaschen, um möglichst viel Mucin zu extrahiren; gewöhnlich wurden sie über Nacht in Wasser liegen gelassen. Nach dem Durchsiehen durch Gaze wurde dann der Rückstand 24 Stunden lang mit 0,4%iger Salzsäure ausgezogen und die Operation dann noch einmal wiederholt. Der zweite und die folgenden Auszüge enthielten bedeutend weniger organische Substanz als der erste, waren aber nicht weniger wirksam.<sup>1)</sup> Pepsinlösung Nr. III und V dagegen, die in vielen Versuchen benutzt wurden, waren beide erste Auszüge und waren wirksamer wie die späteren Auszüge derselben Schleimhaut. Der Stickstoffgehalt in der Fermentlösung wurde nach Kjeldahl bestimmt. Ein oder zwei Tropfen Chloroform wurden hinzugefügt, und so waren die Lösungen noch 7 Wochen nach ihrer Darstellung von guter Wirksamkeit.

Sie enthielten natürlich nebenbei Labferment. Wenn der saure Schleimhautauszug drei Tage lang bei 36—40° im Brutschrank gestanden hatte, bewirkte die neutralisirte Flüssigkeit keine Milchgerinnung. Dagegen war sie in saurer Lösung noch wirksam, während das gleiche Volumen 0,4%iger HCl, zur Milch hinzugesetzt, diese unverändert liess. Wenn ferner die neutralisirte Lösung, die keine Gerinnung mehr verursachte, in gemessener Menge zu Milch gefügt wurde und dann dieselbe Menge 0,4%iger Salzsäure, um die Reaction wieder sauer zu machen, so trat Gerinnung ein: sie blieb aus in Kontrollversuchen, in denen nur Säure und Milch zusammengebracht

<sup>1)</sup> Siehe Klug, loc. cit., S. 107. Ebenso Pflüger's Archiv, Bd. 60, S. 44. 1895.

worden waren. Ein käufliches Pepsinpräparat, das im Laboratorium vorrätig war, zeigte dieselbe Fähigkeit, Milch gerinnen zu lassen.

Schon C. A. Pekelharing<sup>1)</sup> hat angegeben, dass eine Pepsinlösung, die 5 Tage lang der Verdauung mit 0,5%iger HCl überlassen war, noch Milch zur Gerinnung brachte, ebenso wie verschiedene Proben von käuflichem Pepsin. Ebenso sagt Hammarsten,<sup>2)</sup> die Zerstörung des Lab durch Pepsin sei eine häufige, aber nicht constante Erscheinung. Pekelharing's Pepsin war wie das von mir benutzte aus Schweinemagen genommen. Die Beobachtungen werden durch die Entdeckung I. Bang's<sup>3)</sup> erklärt, der gezeigt hat, dass der Magen dieser Thierklasse eine besondere Art Labferment (Parachymosin) liefert, das der Verdauung mehr widersteht wie gewöhnliches Chymosin.

Ich habe endlich einen Theil desselben Pepsinauszuges 27 Tage im Brutschrank stehen gelassen; dann verursachte er weder bei saurer noch neutraler Reaction in 4 Stunden bei 38° Gerinnung, er zeigte aber noch deutliche, wenn auch schwache Einwirkung auf Fibrin.<sup>4)</sup>

Da nun protrahirte Verdauung im Brutschrank die Kraft der Pepsinlösungen grössten Theils zerstörte, so wurden in der Hauptsache nur die unverdauten labhaltigen Auszüge benutzt.

### 3. Versuche.

Hier möge gleich das Resultat bemerkt werden, dass die Viskosität einer Eiweisslösung bei der Pepsinverdauung abnimmt, und zwar zuerst sehr schnell, allmählich immer langsamer.

Dies wurde zuerst an einer Syntoninlösung gezeigt, die auf folgende Weise hergestellt war: Ungefähr 500 g Rind-

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXII, S. 244. 1896.

2) Lehrbuch, S. 271. 1899.

3) Deutsche med. Wochenschrift. 1899, Nr. 3.

4) Natürlich wurde ein Vergleich mit Säure allein von derselben Concentration gemacht.

fleisch, sorgfältig von Fett und Fascien befreit, wurden zerkleinert und durch wiederholtes Abgiessen mit Wasser solange gewaschen, bis letzteres farblos ablief. Zum unfiltrirten Rückstande wurden bis 2 Liter Wasser hinzugegossen und 16 ccm. concentrirte Salzsäure hineingerührt. Nach 24 Stunden wurde durch häufig gewechselte Faltenfilter filtrirt. Die so erhaltene Lösung war so viskös, dass sie starke Verdünnung erlaubte, ehe sie die Beweglichkeit des Wassers erreichte. Wenn die angewendeten Eiweiss- und Pepsinlösungen so schwach sind, dass die Durchflusszeit durch das Capillarrohr nicht sehr von der des reinen Wassers verschieden ist, so ist klar, dass die beobachtete Verminderung der Viskosität nur gering sein kann; die Anwendung eines Apparates mit längerer Durchflusszeit würde durch Vergrösserung der Differenz bis zu einem gewissen Grade diese Schwierigkeit umgehen, aber wegen der oben angeführten Gründe<sup>1)</sup> ist dies nicht wünschenswerth.

Es erschien nun nothwendig, zu erforschen, ob die beobachtete Erscheinung gänzlich auf Rechnung des Pepsins zu setzen war, das in Gegenwart von Salzsäure wirkte, oder ob solche eine Veränderung auch ohne Pepsin, mit Säure allein vor sich ging oder ob endlich eine Eiweisslösung, die weder Pepsin noch Säure enthielt, dieselben Vorgänge zeigte. Die Antwort auf den ersten Theil der Frage konnte leicht erhalten werden, denn es fand sich, dass die Viskosität einer reinen Syntoninlösung unter denselben Bedingungen abnahm, allerdings viel langsamer als bei Gegenwart von Pepsin.

Was den zweiten Theil der Frage betrifft, so wurden reine oder annähernd reine wässerige Lösungen im Verlauf dieser Untersuchungen wenig gebraucht, da es sehr schwer war, eine genügend starke Lösung zu bekommen. Indessen sind von Bottazzi<sup>2)</sup> Lösungen der verschiedenen Eiweisskörper untersucht mit einem Apparat, der eine 20—30 mal längere Durchflusszeit hatte wie der von mir benutzte; er hat

1) Siehe oben S. 469.

2) loc. cit.

jedoch die fragliche Veränderung nicht beobachtet. Ferner kann man in Figur 5 erkennen, dass Pflanzenvitellin in 3% iger NaCl-Lösung nur eine ausserordentlich kleine Verminderung seiner Viskosität bei 40° erfährt. Diese ist wahrscheinlich der Salzwirkung zuzuschreiben, denn bekanntlich üben Salze eine langsame Verdauung auf Eiweiss<sup>1)</sup> aus. Selbst wenn übrigens eine Eiweisslösung sich spontan verändern sollte, so würde diese so unbedeutend sein, dass sie für den vorliegenden Zweck vernachlässigt werden kann.

#### 4. Wirkung der Salzsäure ohne Pepsin.

##### Wirkung bei Körpertemperatur.

Die Wirkung von Säuren auf Eiweisskörper ist von vielen Forschern untersucht worden und es ist wohl bekannt, dass dieselbe Veränderung, die gewöhnlich durch Fermente hervorgerufen wird, langsamer durch Säuren allein erzeugt werden kann. Nachdem Meissner gezeigt hatte, dass man Pepton aus Fibrin durch Kochen mit Säure erhalten kann, fanden Wittich<sup>2)</sup> und Wolfhügel,<sup>3)</sup> dass diese Umwandlung auch bei Körpertemperatur stattfindet. Klug<sup>4)</sup> konnte Albumosen neben Syntonin 5 Minuten nach Beginn einer schwachen Säurewirkung<sup>5)</sup> nachweisen. In Goldschmidt's<sup>6)</sup> Versuchen wurden Albumosen in 1 Stunde aus Eialbumin bei 18° gebildet und viel reichlicher bei 40°. In der That entstehen die Albumosen so schnell, dass er annimmt, eine Albumose würde gleichzeitig bei der Bildung des Acidalbumins mit abgesprengt. Dem widerspricht Huppert,<sup>7)</sup> der das frühe

<sup>1)</sup> Limbourg, diese Zeitschrift, Bd. XIII, S. 450. Dastre, Arch. de Physiol. 1894, p. 464 u. 919. 1895, p. 585. mit Floresco, p. 701. Compt. rend. Acad. Scienc. 1895, p. 589.

<sup>2)</sup> Pflüger's Archiv, Bd. 5, S. 468. 1872.

<sup>3)</sup> Pflüger's Archiv, Bd. 7, S. 188. 1873.

<sup>4)</sup> Loc. cit. und Pflüger's Archiv, Bd. 60, S. 67.

<sup>5)</sup> Sjöquist, Skand. Arch. f. Physiol., Bd. 5, S. 277. 1895. Hier findet man eine Uebersicht mit guter Bibliographie.

<sup>6)</sup> Ueber die Einwirkung von Säuren auf Eiweissstoffe. Strassburger Inauguraldissertation 1898.

<sup>7)</sup> Schütz u. Huppert, loc. cit.

Erscheinen der Albumose auf die rasche Veränderung des zuerst gebildeten Acidalbumins schiebt.

Die Wichtigkeit der Säurewirkung wird sofort klar, wenn man die Aenderung der Viskosität einer Syntoninlösung beobachtet. Die obere Curve von Figur 2 wurde von einer solchen Lösung erhalten.

Die senkrechte Zahlenreihe links gibt die Durchflusszeit durch das Viskosimeter in Secunden an; wagerecht ist die Tageszeit angegeben, zu der die Beobachtung gemacht wurde. Die Ablesungen wurden an 3 aufeinander folgenden Tagen gemacht und des Nachts wurden Viskosimeter und Kontrollglas aus dem Thermostaten herausgenommen. Die zwei senkrechten Linien theilen den ersten, zweiten und dritten Tag von einander, hier ist in Klammern an der Curve die Zeit angegeben (in Stunden), während der die Lösungen Nachts bei Zimmertemperatur gestanden haben. In diesem Zeitraum ging die Veränderung weiter vor sich, aber sehr langsam. So ist z. B. während der 13 Stunden, zwischen dem 24. und 25. October, die Durchflusszeit um ungefähr 6 Secunden vermindert, während sie am nächsten Tage im Thermostaten innerhalb nur einer Stunde um mehr wie diese Grösse gefallen ist.

### Einfluss der Bewegung.

In Figur 2 ist jede gemachte Beobachtung notirt. Wurden 3 Bestimmungen kurz hintereinander gemacht, so fiel auf, dass häufig die Verminderung der Durchflusszeit zwischen der ersten und zweiten grösser war, wie zwischen der dritten und vierten: dies verursacht den sprungförmigen Abfall, der an 2 oder 3 Stellen der Curve, die mit einem Kreuz markirt sind, constatirt werden kann. Diese Erscheinung hängt offenbar mit der Bewegung der Flüssigkeit im Viskosimeter zusammen, durch die eine Beschleunigung der molekularen Aenderung erzeugt wird. Nach dieser Beschleunigung tritt der entgegengesetzte Effect auf und zwischen zweiter und dritter Bestimmung ist der Unterschied ein viel geringerer. Sieht man Figur 7 (wo Pepsin und Salzsäure benutzt wurden) daraufhin durch, so scheint sogar an einigen Stellen eine Umkehr zu grösserer Viskosität stattzuhaben, gerade als ob die Flüssigkeit vorher ihr molekulares Gleichgewicht überschritten hätte. Der sprungförmige Abfall wird am besten beobachtet, wenn die Flüssigkeit einige Zeit ruhig gestanden hat.

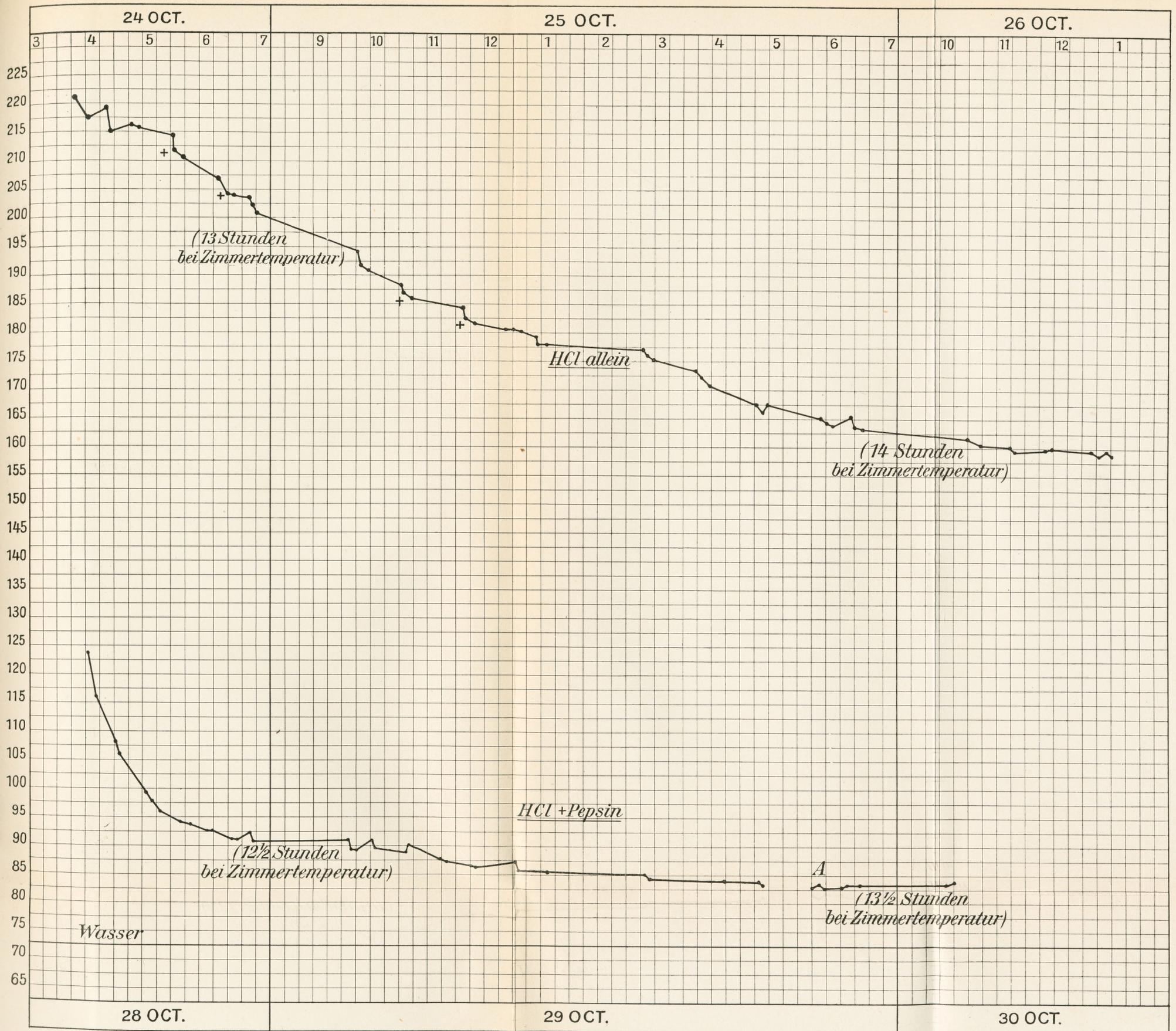
Anhaltendes Schütteln einer Verdauungsflüssigkeit ist von vielen Forschern angewandt worden, um die Verdauung pulverförmigen Eiweisses zu befördern, und es hat sich gezeigt, dass es die Menge des Verdauungsprodukts in einer gegebenen Zeit vermehrt, wahrscheinlich weil der feste Körper gut mit der Flüssigkeit gemischt wurde.<sup>1)</sup>

Da im vorliegenden Falle keine Vertheilung von festen Körpern in einer Lösung in Frage kommen konnte, war es wichtig, zu wissen, ob die Viskosität der unbewegten Kontrollflüssigkeit, die im Thermostaten stand, denselben Gesetzen folgte, wie die von Zeit zu Zeit bewegte Flüssigkeit im Viskosimeter. Figur 3 schildert ihr Verhalten.

Hier sind einige der Bestimmungen, die mit Syntonin Nr. III allein gemacht sind, wiedergegeben. Die Viskosität ist in rascher Abnahme begriffen und um 5 Uhr 32 Minuten Nachm. betrug die Durchflusszeit 226,8 Secunden. Das Viskosimeter wurde jetzt mit der Lösung gefüllt, die im Kontrollröhrchen im Wasserbade seit dem Beginn der Beobachtungsreihe um 10 Uhr Vorm. gestanden hatte (siehe Nr. 1 der Figur). Ihre Durchflusszeit war um 6 Uhr 30 Minuten Nachm. 16 Secunden länger. Indessen war sie bei der nächsten Beobachtung, nach 15 Minuten, bis auf 225,4 Secunden gesunken, zeigte den Sprung in markanter Weise und war in weiteren 9 Minuten (um 7 Uhr) soweit gefallen, dass das Resultat in der absteigenden Curve der ursprünglichen Lösung seinen richtigen Platz würde eingenommen haben. Am nächsten Tage wurde das Viskosimeter wieder geleert (siehe Nr. 2 der Figur) und mit der Kontrollflüssigkeit gefüllt. Ihre Durchflusszeit wurde 6 Secunden länger gefunden als die der zuerst bestimmten Flüssigkeit, und sie sank bedeutend langsamer bis zu dem gleichen Niveau herab. Diese 2 Unterschiede von 16 und 6 Secunden sind deshalb besonders aufgeführt, weil sie die grössten waren, die zur Beobachtung kamen.

Diese und viele weitere Bestimmungen bewiesen, dass die Viskosität der Kontrolllösung zu einer bestimmten Zeit etwas grösser ist, als die der Lösung im Viskosimeter, besonders in den ersten Stadien eines jeden Versuches. Im

<sup>1)</sup> Siehe Klug, Pflüger's Archiv, Bd. 60, S. 68 u. Sjöquist, loc. cit. In den Versuchen von Sheridan Lea (Journal of Physiology, Vol. 2, p. 226) und von Chittenden u. Amerman (Journal of Phys., Vol. 14, p. 486, 1893) war ein Zweck der Bewegung die Beförderung der Dialyse.



Grossen und Ganzen sind indessen beide Curven gleichverlaufend und schon die Bewegung durch die Capillare hindurch

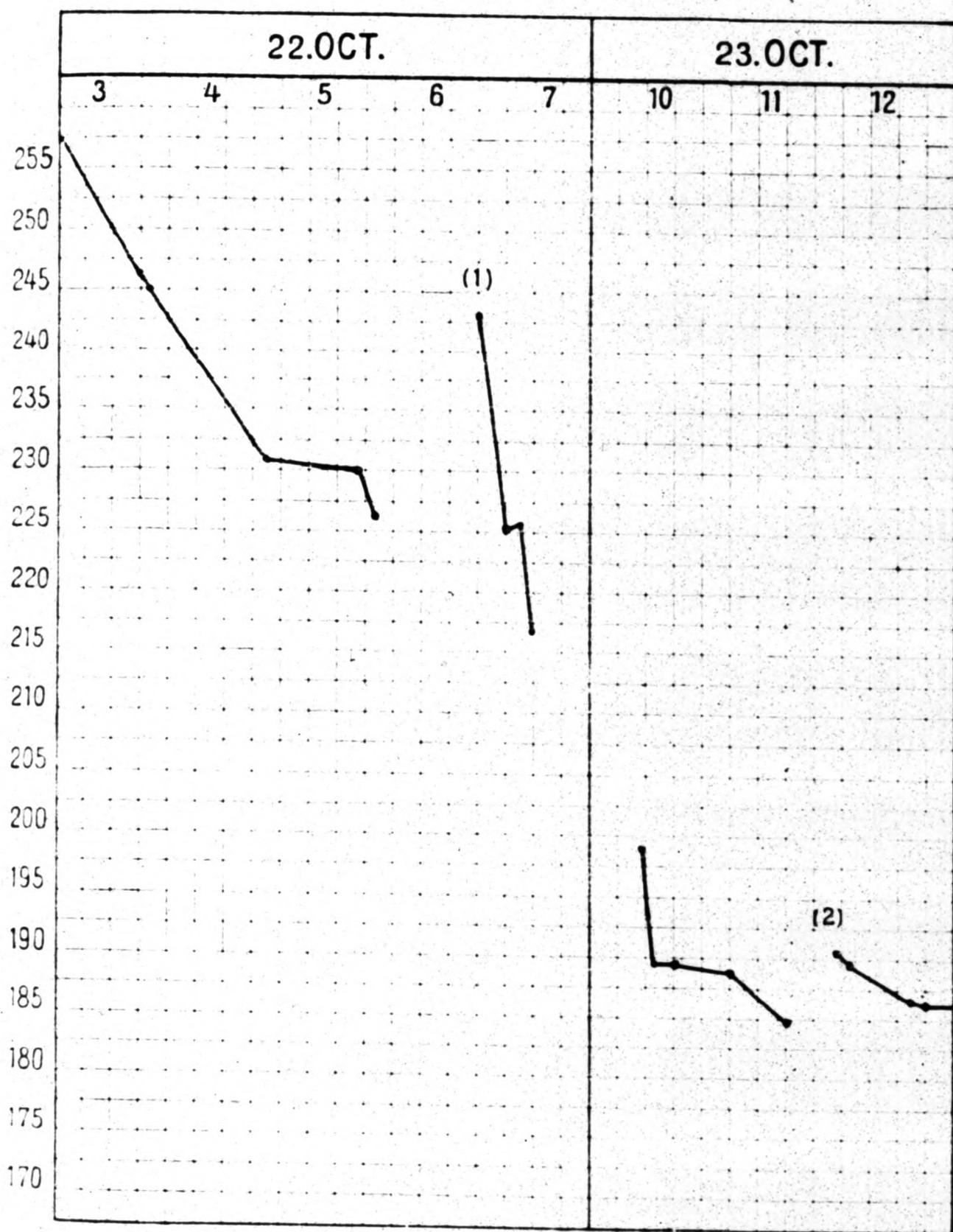


Fig. 3. *Temperatur: 38.5 °C.*

genügt, um sie beide rasch zur Deckung zu bringen. Natürlich ist ein Maass für die Wirkung der Bewegung durch die Grösse des staffelförmigen Abfalls gegeben, der sich häufig in der Curve findet: gewöhnlich sind beide sehr klein. Hier möge

ferner gleich bemerkt werden, dass bei Pepsin enthaltenden Flüssigkeiten die Uebereinstimmung zwischen Kontroll- und Viskosimeterprobe eine noch grössere war. Häufig wurde das Viskosimeter während oder am Ende einer Beobachtungsreihe mit der Kontrollprobe gefüllt und immer lag die Viskosität der Kontrollprobe sehr nahe der der Flüssigkeit, die sehr oft das Viskosimeter durchlaufen hatte. Wurde von der Kontrollflüssigkeit etwas zur chemischen Analyse entnommen, so wurde erst gut umgeschüttelt.

#### Die chemische Veränderung.

Es war zu vermuthen, dass die grossen physikalischen Aenderungen der Flüssigkeit auch mit beträchtlichen chemischen Umlagerungen verbunden waren, und es wurde also in der Lösung, die bei den zu Figur 2 gehörigen Versuchen benutzt worden war, am Anfang und am Ende des Versuches der Betrag an coagulirbarem Eiweiss bestimmt.

Unter coagulirbarem Eiweiss wird hier und im Folgenden die Menge Eiweiss verstanden, die durch Neutralisation, schwache Ansäuerung mit Essigsäure, Aufkochen und Filtriren aus der Flüssigkeit entfernt werden kann, also Albumin und Acidalbumin. Das Filtrat sammt Washwasser wird in 2 Theile getheilt und in jedem der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Das Mittel aus ihnen gibt den Betrag an Stickstoff der uncoagulablen Eiweisskörper an. Ist die Gesamtmenge des Stickstoffs in der Lösung bekannt, so ist die Menge des Stickstoffs, der in Form coagulabler Eiweisskörper vorhanden ist, gleich der Differenz der beiden Bestimmungen.

Die ursprüngliche Lösung der oberen Curve von Figur 2 enthielt 0,30% Stickstoff, von dem 0,18% coagulablem Eiweiss angehörte. Am Ende der Versuche betrug diese Zahl 0,15%; folglich waren ungefähr 17% coagulables Eiweiss der ursprünglichen Lösung in uncoagulables verwandelt.

Die Menge freier Salzsäure zu Anfang und am Ende des Versuches wurde ebenfalls bestimmt, durch Titration mit Natronlauge und Phenolphthalein als Indicator, doch fand sich kein deutlicher Unterschied, da sich beziehungsweise 0,32 und 0,33% fanden.

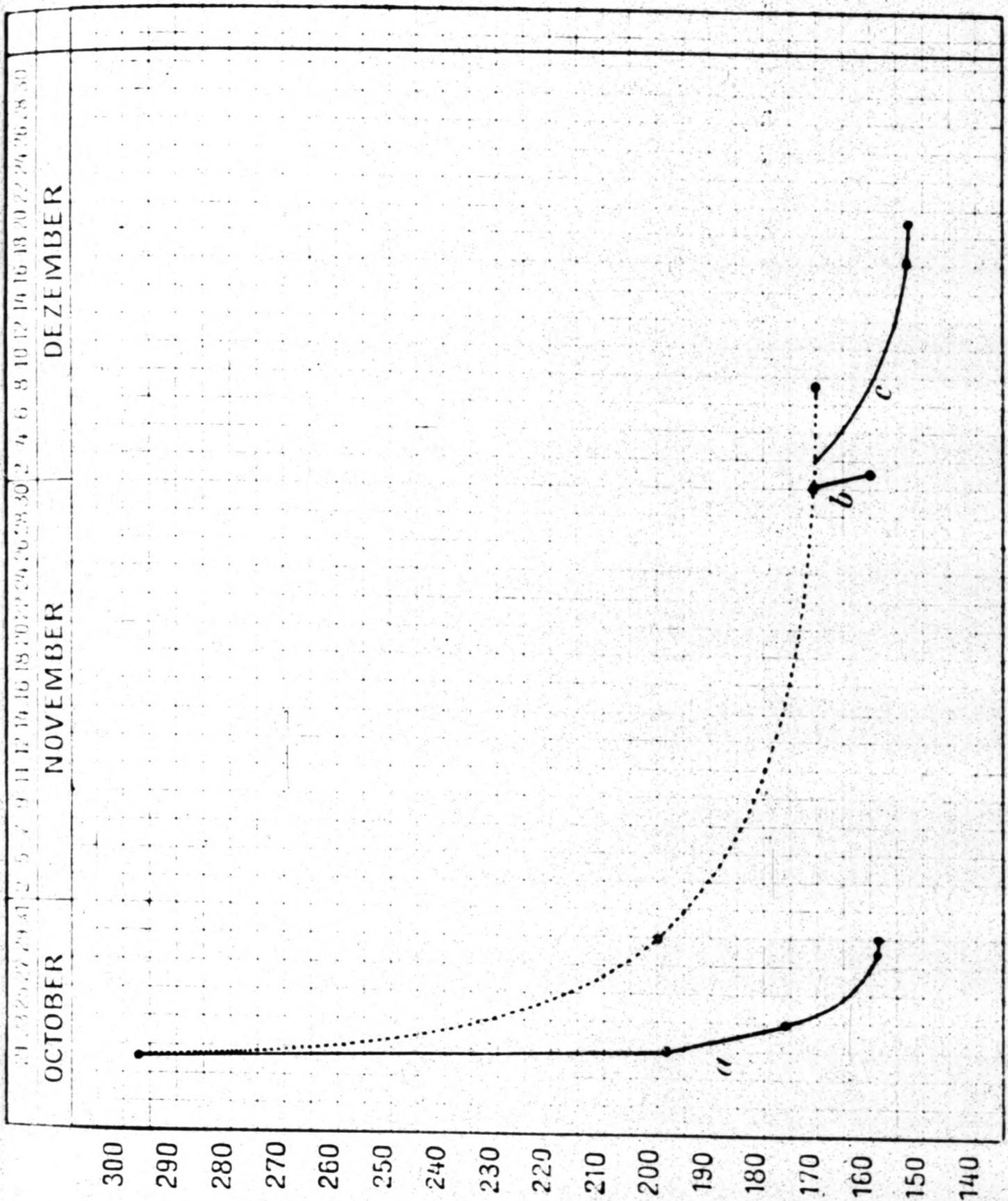


Fig. 4

Wirkung der Salzsäure bei niedrigerer Temperatur.

Die ursprüngliche Syntoninlösung III, die im Keller aufbewahrt wurde, erlitt ebenfalls eine Aenderung ihrer Viskosität, denn die Durchflusszeit fiel in 9 Tagen von 297 Secunden auf 199. Hier ging offenbar derselbe Process vor sich, nur

viel langsamer. Die graphische Darstellung des Vorganges zeigt zuerst einen raschen, dann einen langsamen Abfall der Curve und erreicht schliesslich einen Punkt, wo die Veränderung nur noch unendlich langsam vor sich geht.

Figur 4 zeigt die Aenderung der Viskosität, die die Syntoninlösung Nr. III im Laufe von 2 Monaten erlitt. Die Zeit ist von links nach rechts in zweitägigen Intervallen verzeichnet. Die punktirte Curve gibt die Aenderung in der kalten Lösung an, die im Keller bei etwa 5° stand; die Bestimmung der Viskosität wurde bei 40° gemacht. Die ausgezogene Curve bezeichnet die Aenderungen der Viskosität derselben Flüssigkeit bei höherer Temperatur: a und b sind Theile der Flüssigkeit, die eine Woche lang (a) oder nur einen Tag lang (b) bei 40° gehalten wurden; c ist ein Antheil, der am 4. Dezember in den Brutschrank bei 36—37° gestellt und dort 14 Tage gelassen wurde. Die Flüssigkeit zeigte während der 2 Monate keine Spur von Fäulniss.

Das Niveau, bis zu dem die Veränderung langsam abfällt, ist verschieden für verschiedene Temperaturen: ist der Process bei einer gewissen Temperatur praktisch zum Stillstand gekommen, so nimmt beim Steigen der Temperatur die Flüssigkeit ein neues molekulares Gleichgewicht ein mit geringerer Viskosität.

##### 5. Wirkung von Pepsin und Salzsäure.

Wenn Pepsin zu einer Eiweisslösung hinzugefügt wird, die den gehörigen Säuregrad besitzt, so wird die Abnahme der Viskosität bedeutend beschleunigt. Die untere Curve in Figur 2 zeigt graphisch diesen Vorgang. Die Lösung war dieselbe wie die für die Gewinnung der oberen Curve gebrauchte, nur war statt eines Theiles 0,4%iger Salzsäure zu 9 Theilen Syntoninlösung III ein Theil saurer Pepsinlösung zu derselben Syntoninmenge hinzugesetzt. Da aber der Versuch 4 Tage später begann wie der mit der reinen Salzsäure, so kann die Anfangsviskosität der beiden Lösungen nicht die gleiche sein, weil die Viskosität der Syntoninlösung III in 4 Tagen in der Kälte gleichfalls abgenommen hatte. Zieht man aber dies in Rechnung, so sieht man, wie trotzdem ein starker und rascher Abfall der Viskosität eintritt, wenn ein Zehntel Volumen wirksamer Pepsinlösung zu der Flüssigkeit hinzugesetzt wird.

Bei dem Versuch in Figur 2 verstrichen 14 Minuten zwischen dem Eintauchen der Mischung in das Wasserbad und der ersten Bestimmung. Da nun die Verdünnung der Syntoninlösung mit  $\frac{1}{10}$  ihres Volumens 0,4% iger HCl am 24. October die Durchflusszeit von 250 auf 220 Secunden herabsetzte, also um etwas mehr wie ein Achtel der Gesamtzeit, so kann man annehmen, dass die Durchflusszeit der Mischung von Pepsin- und Syntoninlösung gleich nach dem Mischen nicht weniger wie 180 Secunden betrug, dann ist die Durchflusszeit in den ersten 15 Minuten der Pepsinwirkung um 60 Secunden gefallen.

Der Process schreitet natürlich im Anfang äusserst rasch fort, weil das Verhältniss von Pepsin zu unverändertem Eiweiss dann am grössten ist und keine Anhäufung von Verdauungsprodukten die Fermentwirkung hindert. Wenn auch Chittenden und Amerman<sup>1)</sup> fanden, dass die Entfernung eines Theiles der Albumosen und Peptone durch Dialyse wenig Einfluss auf die Geschwindigkeit der Verdauung hatte, so hat doch Krüger<sup>2)</sup> gezeigt, dass die Wirksamkeit des Pepsins mit einem erhöhten Gehalt der Lösung an Verdauungsprodukten sinkt.

Zu erwähnen ist ferner, dass die endliche Viskosität der Flüssigkeit keineswegs weit entfernt von der des Wassers ist.

Bei A wurde eine Probe der Kontrollflüssigkeit in das Viskosimeter gethan und seine Durchflusszeit war nicht grösser, wie die der fortwährend in Bewegung gewesenen Flüssigkeit: die Kontrollflüssigkeit war ein oder zwei Mal geschüttelt worden, als Proben für die chemische Analyse entnommen worden waren.

### Die chemische Veränderung.

Dass die chemische Veränderung nicht weniger rasch fortschritt, zeigen die folgenden Zahlen. Die ursprüngliche Lösung enthielt 0,31% Stickstoff (0,01% mehr wie die Lösung, von der die obere Curve von Figur 2 gewonnen wurde, damit dem Pepsin wohl dieser kleine Mehrbetrag hinzugekommen ist). Sie hatte 0,18% Stickstoff als Eiweiss in coagulirbarer Form. Am Ende enthielt die Lösung am 30. October 0,03% Stickstoff als coagulables Eiweiss. Also waren in 13 Stunden

1) loc. cit.

2) Zeitschrift für Biologie, Bd. 41, S. 467. 1901.

im Thermostaten ungefähr 83° des coagulirbaren Eiweisses in uncoagulirbares verwandelt gegen 17° bei Einwirkung von Salzsäure allein, ausweislich der oberen Curve, wo die Lösung 15 Stunden im Thermostaten gestanden hatte.

#### Beobachtungen an anderen Eiweisslösungen.

Es ist klar, dass es nicht genügend ist, nur mit einer solchen Lösung wie die des Syntonins zu arbeiten, die verschiedene Eiweisskörper enthält und fortwährend sich ändert. Schon die Gegenwart einer beträchtlichen Menge nicht coagulablen Stickstoffs zu Beginn jeden Versuches wird die Schnelligkeit der Umwandlung der coagulablen in die nicht coagulable Form beeinträchtigen. Daher erschien es wünschenswerth, einen coagulablen Eiweisskörper aufzufinden, der rein oder doch fast rein in einer Concentration erhalten werden konnte, die hoch genug war, um eine für die Experimente genügende Viskosität zu haben.

Zunächst wurde darum Serumalbumin aus Pferdeblutplasma nach Hopkin's Methode dargestellt und dialysirt, bis mit Baryumchlorid kein Niederschlag mehr entstand. Eine Zersetzung wurde durch Chloroform verhindert. Aber alle Versuche, die so erhaltene schwache Lösung im Vacuum über Schwefelsäure bei Zimmertemperatur und bei 35° wieder zu concentriren, schlugen fehl. Die Lösung konnte leicht bis zu einem gewissen Punkt eingeengt werden, aber darüber hinaus war keine weitere Concentration möglich, ohne dass sich das Albumin in feiner Vertheilung aus der Flüssigkeit ausschied, sodass nach der Filtration die Viskosität nicht grösser war wie vorher. Ferner wurde eine Probe krystallisirten Edestins, das mir Herr Professor Kossel gütigst zur Verfügung stellte, mit warmer Kochsalzlösung behandelt und warm filtrirt, um das unlösliche Edestan fortzuschaffen; doch war die erhaltene Lösung nicht viskös genug für unsere Zwecke.

Später stellte sich heraus, dass ein vegetabilisches Vitellin von Grübler löslich genug war, und Figur 5 zeigt das Resultat der mit ihm vorgenommenen Bestimmungen.

In der oberen Curve ist das Vitellin in 3° iger warmer Salzlösung gelöst.

Die mittlere Curve stammt von einer Mischung (in der Kälte angefertigt) von 19 Theilen Vitellinlösung in 0,4° iger HCl und 1 Theil 0,4° iger HCl.

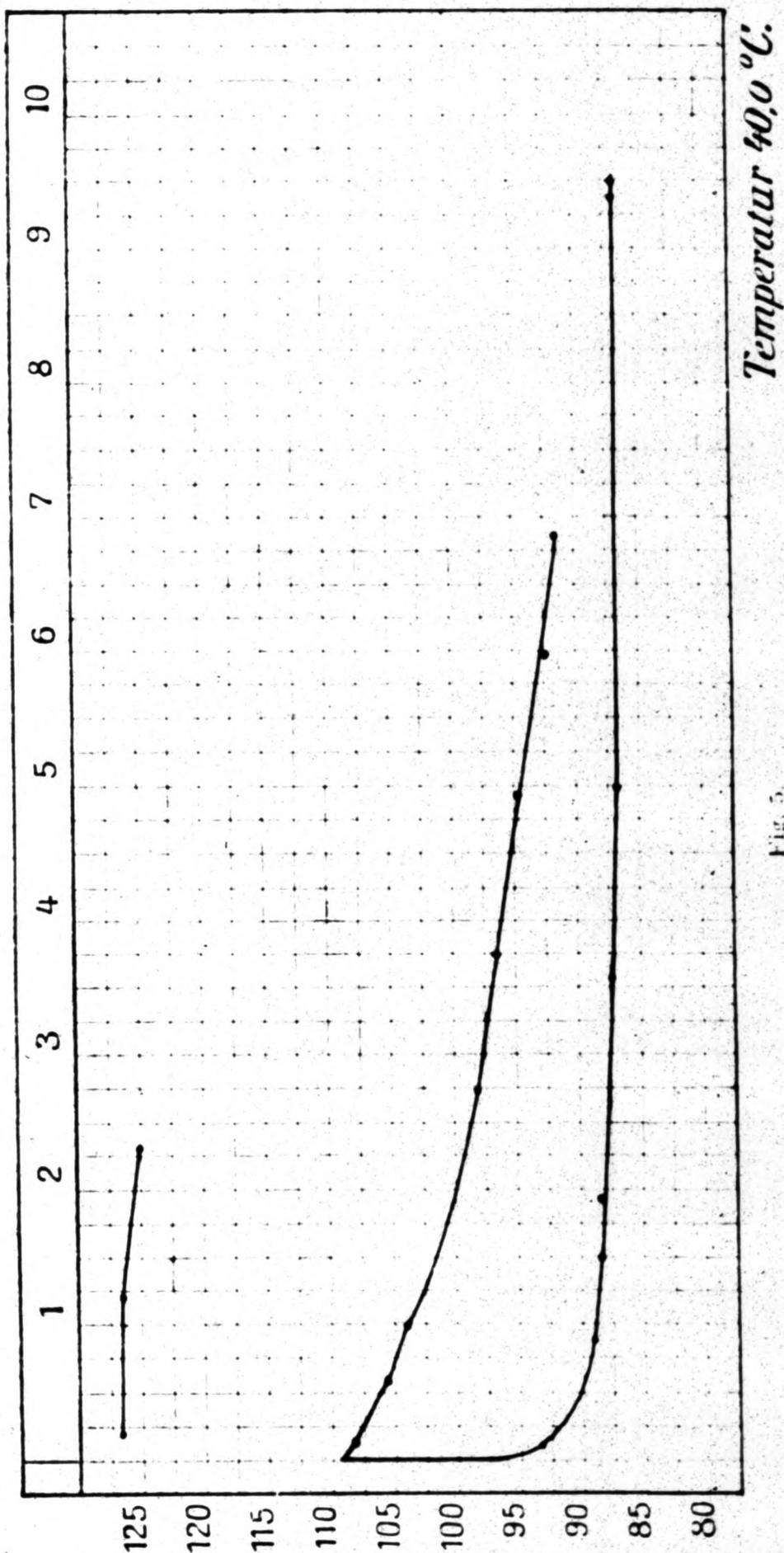


Fig. 5.

Die untere Curve ist von derselben sauren Vitellinlösung, nur statt 1 Theil 0,4% ige HCl wurde 1 Theil saure Pepsinlösung hinzugefügt.

Die Figur zeigt, dass die oben beschriebenen Erscheinungen auch bei dieser reineren Lösung auftreten. Leider stand mir aber nur eine sehr begrenzte Menge zur Verfügung und es muss einer späteren Veröffentlichung vorbehalten bleiben, weitere Versuche mit diesen und ähnlichen Eiweisskörpern zu beschreiben.

Nach Ablauf einiger Wochen seit den ersten Bestimmungen von Syntonin III wurde bei erneuter Untersuchung an aufeinander folgenden Tagen gefunden, dass seine Viskosität praktisch constant geblieben war. Ein gewichtiger Einwand gegen seinen Gebrauch war dadurch gegenstandslos geworden, und da es in genügenden Quantitäten, die eine Analyse erlaubten, zu haben war, so wurde es trotz der unbekanntem Natur der verschiedenen Componenten zu weiteren Versuchen benutzt.

Die Art der chemischen Aenderung, die den Abfall der Viskosität begleitet.

Nur wenige Betrachtungen über die Art der chemischen Aenderung mögen hier Platz finden; sie sind, da weitere Versuche noch ausstehen, naturgemäss nicht erschöpfend.

Die gebrauchte Syntoninlösung, ebenso die saure Vitellinlösung von Figur 5 bestehen wahrscheinlich in der Hauptsache aus Körpern von der Natur des Acidalbumins oder Acidglobulins und es scheint, als ob der chemische Process, der mit der beobachteten Erniedrigung der Viskosität einhergeht, in einer Umwandlung dieser Körper in einfachere Substanzen besteht. Auf den vorstehenden Blättern findet sich nun kein Beweis dafür, dass z. B. die Umwandlung einer Albuminlösung in Acidalbumin eine ähnliche Erscheinung hervorrufen würde. Da es ferner, wie oben erwähnt, bekannt ist, dass bei der Einwirkung von Salzsäure auf Albuminlösung Albumosen ebensofrüh wie Acidalbumin nachgewiesen werden können, so würde es auch nicht leicht zu entscheiden sein, ob die Abnahme der Viskosität in einer solchen Flüssigkeit nur der Bildung von Acidalbumin aus Albumin zuzuschreiben sei, oder aber nebenher der Bildung niedriger stehender, nicht coagulirbarer Körper, wie der Albumosen.

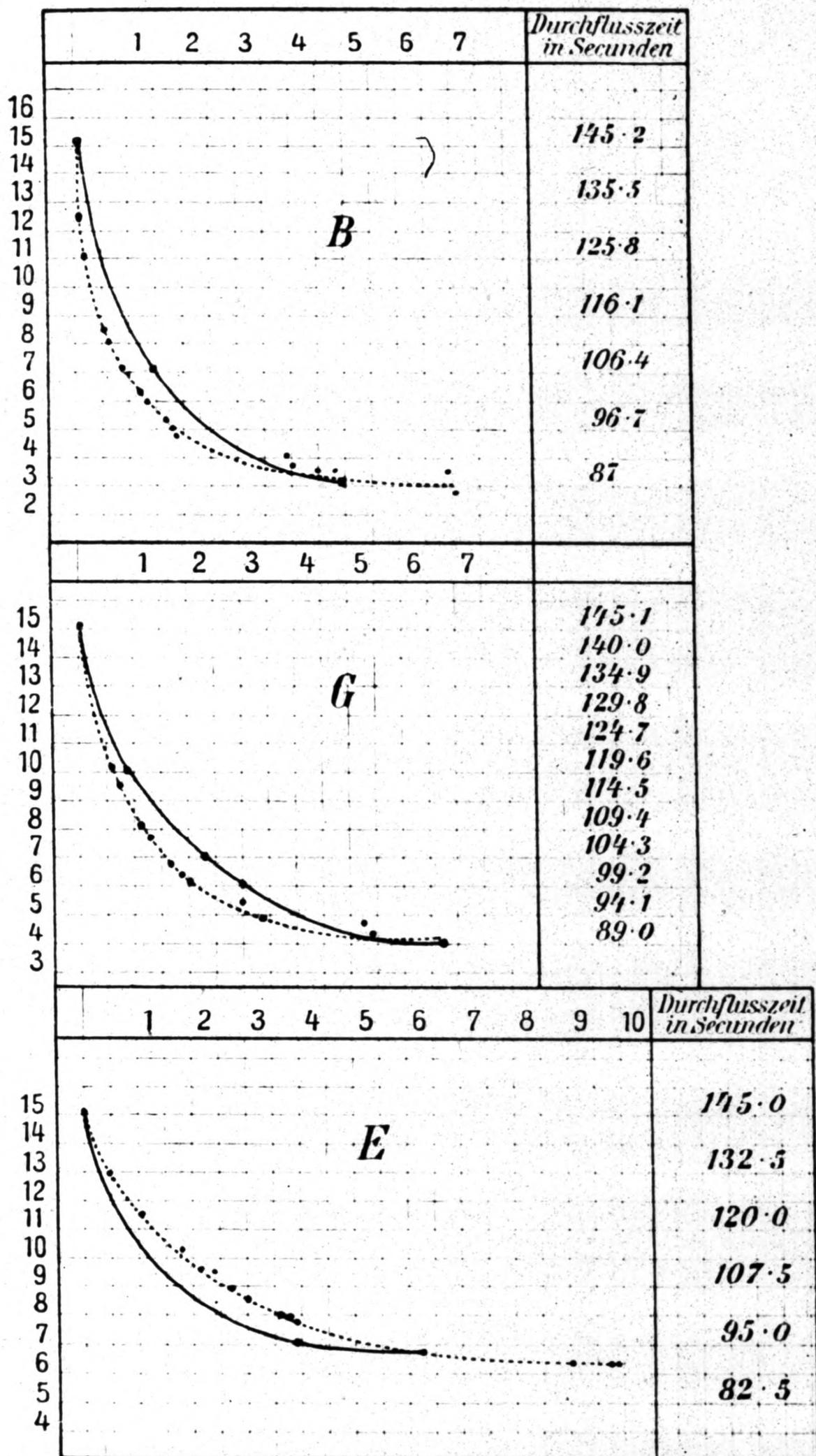


Fig. 6. Temperatur: 40.0°C.

Es war oben gezeigt worden, dass die Aenderung der Viskosität der Syntoninlösung, sowohl mit wie ohne Pepsin, von einer Abnahme der Menge der coagulablen Eiweisskörper begleitet war. In einer Reihe von Versuchen, die mit verschiedenen Mengen Pepsin angestellt waren, wurde gleichmässig gefunden, dass die Viskosität mehr und mehr Constanz erreichte in dem Maasse, wie sich die Menge des coagulablen Eiweisses verminderte, und dass die Curve der Viskosität sich einer Geraden näherte, während noch coagulables Eiweiss in der Lösung zurückblieb. Wenn nun Curven construirt wurden, die graphisch die Abnahme des coagulablen Eiweisses ausdrückten, so entsprachen sie annähernd den Viskositätscurven derselben Lösung.

Die punktirten Curven der Fig. 6 sind die Viskositätscurven der Lösungen B, G und E, die cursivirten Zahlen geben die Durchflusszeit in Secunden an. Die ausgezogenen Curven drücken die Abnahme des coagulablen Eiweisses in der Lösung aus, wie sie aus den Analysen gefunden wurde, und sind construirt mit Hilfe der schwarzen Zahlen links, die den als coagulables Eiweiss vorhandenen Stickstoff procentisch in Centigrammen angeben.<sup>1)</sup>

Auf alle Fälle ist also in der Hauptsache die Abnahme der Viskosität durch die Umwandlung der coagulablen Substanz in die uncoagulirbare bedingt. Soweit die Versuche bis jetzt ausgeführt sind, ist noch nicht entschieden, ob die Umwandlung höherer Albumosen in niedrigere von einer ähnlichen Abnahme begleitet ist und eventuell bis zu welchem Grade. Doch scheint dieser Factor kein grosser zu sein.

### Versuche mit Albumosen.

Wurde Protalbumose, die im Laboratorium vorrätzig war, in Wasser gelöst und mit Pepsin in saurer Lösung behandelt, so entstand nach wenigen Minuten ein Niederschlag; wurde eine neutralisirte Pepsinlösung mit neutraler Protalbumose gebraucht, so entstand innerhalb 6 Stunden kein Niederschlag und die Viskosität änderte sich nicht. Bei Witte's Pepton

<sup>1)</sup> Diesen ähnliche Curven der Verminderung coagulablen Eiweisses sind von Klug construirt aus Beobachtungen mit der spektrophotometrischen Methode. Pflüger's Archiv Bd. 60, S. 57.

und Pepsin in saurer Lösung folgte auf einen geringen Abfall der Viskosität ein rasches continuirliches Steigen, bis nach Verlauf von 5 Stunden eine Trübung erschien, die sich allmählich in einen Niederschlag verwandelte: es ist sehr interessant, dass dieser Niederschlag durch das Steigen der Viskosität schon vorher angezeigt wurde, lange ehe mit dem Auge auch nur eine Opalescenz entdeckt werden konnte. Dass dieser Niederschlag durch das Ferment verursacht war, liess sich leicht erweisen, wenn eine Kontrollprobe der Albumose mit Säure allein in demselben Verhältniss behandelt wurde; die Flüssigkeit blieb dann vollkommen klar.

Diese Niederschläge lenkten sofort die Aufmerksamkeit auf die von Danilewski und seinen Schülern<sup>1)</sup> durch Labwirkung auf Albumosen erhaltenen Niederschläge hin, da dies Ferment sicher in den benutzten Fermentlösungen vorhanden war. Obgleich es, wie oben erwähnt, leicht war, eine Pepsinlösung zu erhalten, die bei neutraler Reaction Milch nicht zur Gerinnung brachte, so war doch eine längere Verdauung der Pepsinflüssigkeit im Brutschrank nöthig, ehe die labende Wirkung so schwach wurde, dass keine Gerinnung mehr eintrat, wenn die nicht neutralisirte Fermentlösung der Milch zugesetzt wurde. Dann war aber auch schon die proteolytische Kraft stark herabgesetzt: aber es gab doch noch solch eine Lösung, zu einer Albumoselösung hinzugesetzt, einen Niederschlag.

#### **6. Vergleich der Curven, die durch Behandlung von Syntoninlösung mit verschiedenen Pepsinmengen erhalten wurden.**

Um die Wirkung verschiedener Mengen Pepsin auf die Viskosität einer Eiweisslösung zu vergleichen, wurde eine Reihe von Verdauungsversuchen angesetzt, die je 4 Theile der Syntoninlösung III enthielten und 1 Theil verschieden grosser Mengen saurer Pepsinlösung, die immer auf das gleiche Volumen mit 0,4<sup>o</sup>iger Salzsäure gebracht worden war. So enthielt A 4 Theile Syntonin und 1 Theil Pepsin V; B enthielt 4 Theile Syntonin, 0,5 Pepsin und 0,5 Salzsäure u. s. w. So

1) Samojloff, Pflüger's Archiv, Bd. 85, S. 171.

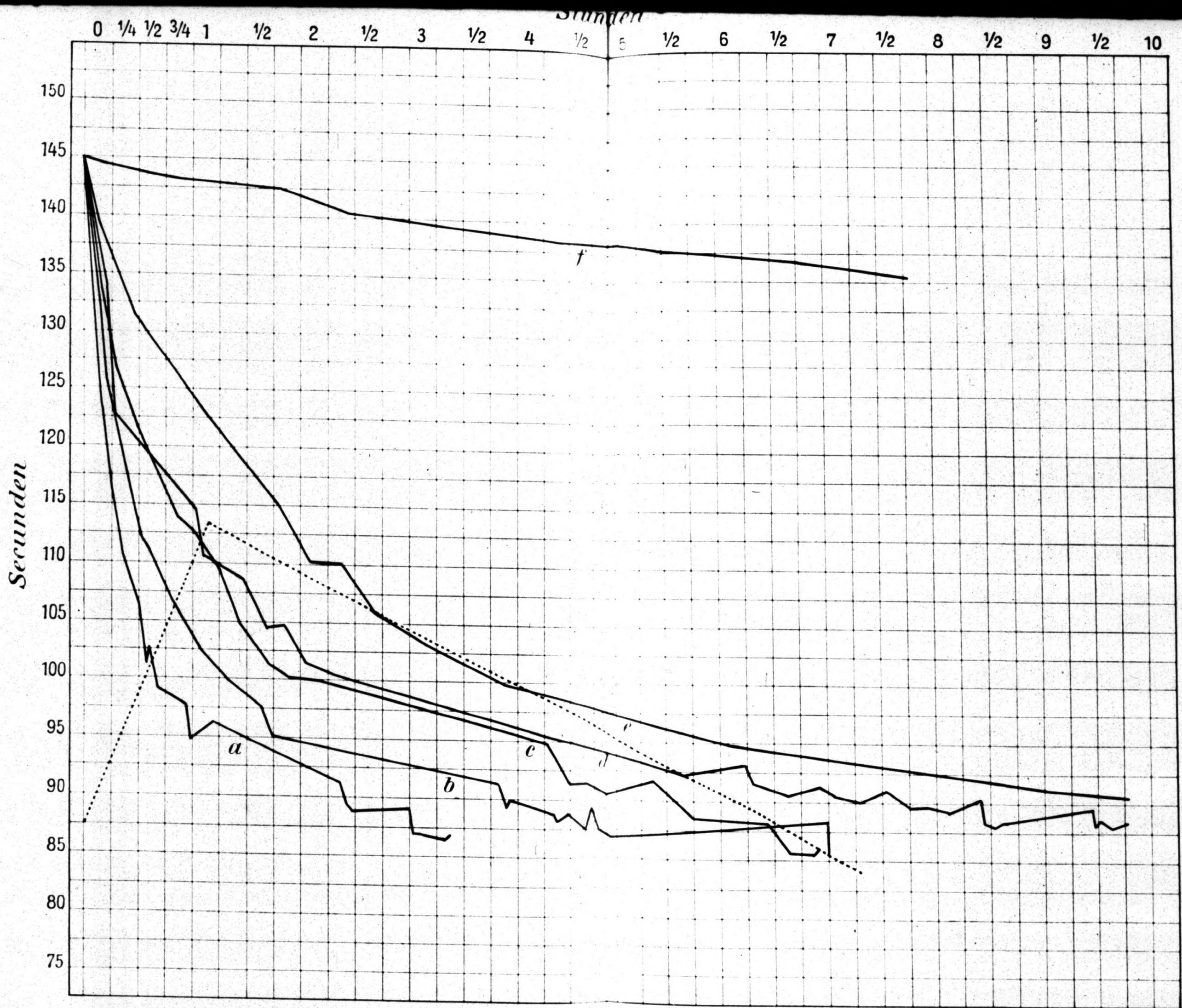
wurde eine Reihe von Lösungen erhalten, in der der Anteil der Salzsäure überall gleich war und nur die Menge Pepsin wechselte. Die Eiweissmenge war nicht ganz genau gleich, da die Pepsinlösung etwas Eiweiss enthielt und zwar auch eine geringe Menge coagulables Eiweiss. Der hierdurch verursachte Fehler ist aber nur im Versuch A beträchtlich, in dem die Pepsinlösung  $\frac{1}{5}$  des Gesamtvolumens betrug: der Betrag an nicht coagulirbarer stickstoffhaltiger Substanz, die in diesem Falle zugesetzt wurde, belief sich auf über 9% und der der coagulablen Substanz auf unter 1% des Ganzen.

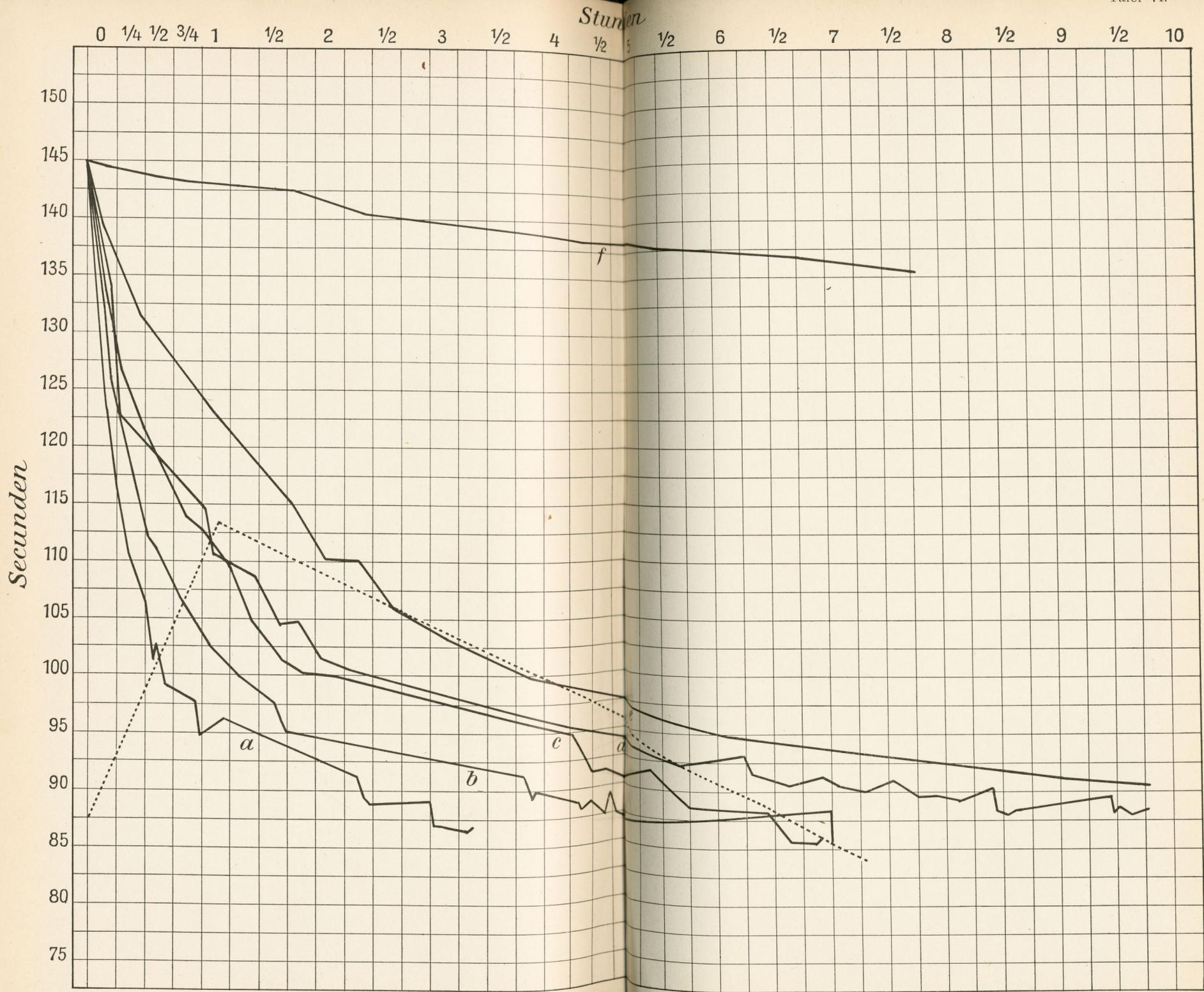
In der folgenden Tabelle ist die Menge Pepsin in jeder Lösung angegeben und gleichzeitig die Menge Stickstoff, die zur Zeit der Mischung als coagulirbare und nicht coagulirbare Substanz vorhanden war.

Lösung	A	B	C	D	E	F	G
% Pepsin . . . . .	20	10	5	4	2.5	0.05	5
% N coagulirbar . .	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
% N uncoagulirbar .	0.14	0.12	0.12	0.12	0.12	0.11	0.12
Gesamt N % . . . .	0.29	0.28	0.27	0.27	0.27	0.26	0.27

Da die Untersuchung dieser Lösungen sich über 10 Tage erstreckte, so war es nöthig, festzustellen, dass die Wirksamkeit des Pepsins sich nicht in der Zwischenzeit verändert hatte: deshalb wurde die Lösung G, die letzte der Reihe, genau ebenso hergestellt wie C; da ihre Curve genau der von C entspricht, so ist offenbar die Stärke der Pepsinlösung unverändert geblieben.

Von dieser Reihe von Verdauungsflüssigkeiten wurde eine Reihe von Beobachtungen erhalten, deren Resultate graphisch in Figur 7 dargestellt sind. Gleich nach der Mischung wurde jede Lösung in das Viskosimeter gebracht und die Durchflusszeit bestimmt, sobald der nöthige Zeitraum verstrichen war, um das Viskosimeter auf die Temperatur des Thermostaten zu bringen.





Hier bedeuten die Zahlen links die Durchflusszeit in Secunden, die Dauer des Versuchs ist wagerecht in Stunden angegeben. Die Curven wurden in Verbindung der Punkte erhalten, die jede einzelne Untersuchung ergab. Die Erscheinung des sprungförmigen Abfalls kann man an verschiedenen Stellen der Curven sehen.

Die Durchflusszeit jeder Lösung am Anfang des Versuches ist gleich 145 Secunden gesetzt. Da sich die Zahl nicht experimentell gleichmässig bestimmen liess, weil noch 10 Minuten verstreichen mussten, nachdem die Lösung in den Thermostaten gestellt war, und weil in dieser Zeit die Durchflussgeschwindigkeit ungleichmässig abnahm, so wurde Lösung F als annähernd normal angenommen, denn nur sie unterlag ausweislich ihrer Curve nur einem äusserst langsamen Wechsel ihrer Viskosität. Die erste Bestimmung ergab bei ihr 144.6, also rund 145 Secunden, die Durchflussgeschwindigkeit der anderen Lösungen war sicher nicht geringer, da sie alle ein wenig mehr Eiweiss enthielten wie F.

Wird, anstatt jeden Punkt zu verbinden, eine Durchschnittscurve gezogen, so erhält man ein getreueres Bild der Veränderung der Lösung in Figur 8.

Hier liegen in 4 Fällen die Punkte näher einer anderen Curve als ihrer eigenen und sind mit letzterer durch eine schwach punktirte Linie verbunden. Curve G ist für Curve C eingesetzt.

Aus jeder Kontrollprobe der Verdauungsflüssigkeiten wurde, sobald die Durchflusszeit auf 100 Secunden gesunken war, eine Probe von 10 ccm. nach vorherigem Schütteln entnommen und analysirt. Die folgenden Zahlen geben das Verhältniss von Stickstoff an, der in Form von uncoagulablem Eiweiss jedesmal vorhanden war.

A	B	C	D	E	G
0,19	0,20	0,20	0,19	0,20	0,20

Die Uebereinstimmung ist eine sehr grosse und es folgt, wie zu erwarten war, dass in einer solchen Reihe von Verdauungen bei einem bestimmten Grade von Viskosität eine jede dieselbe proportionale Vertheilung von coagulablem und uncoagulablem Eiweiss hat.

Die Methode liefert also ein Mittel, um in einer solchen Reihe die Zeit zu erkennen, bei der jede einen gewissen Grad chemischer Veränderung erreicht hat, solange als die Umwandlung von coagulablem Eiweiss in uncoagulables noch vor sich geht.

Proben, die bei anderen Durchflussgeschwindigkeiten entnommen wurden, gaben ähnliche Resultate.

Da jede gegebene Viskosität einen bestimmten chemischen Zustand präsantirt, so lässt sich die Zeit, die nöthig ist, um dieses Stadium zu erreichen, direkt aus den Curven entnehmen. Es ist nur nöthig, eine gerade Linie durch sämtliche Curven zu ziehen in der Höhe der Durchflusszeit, die dem Stadium entspricht, so gibt die Länge der Linie vom Anfang bis zum Schnittpunkt mit jeder Curve die Zeit in Stunden für die betreffende Verdauung an.

Von Schütz<sup>1)</sup> wurde ein Gesetz formulirt, nach dem die Geschwindigkeit der Verdauung der Quadratwurzel aus der Menge des Pepsins proportional sei: es wurde bewiesen durch polarimetrische Messung des gebildeten Peptons. Aber die Regel gilt nur in bestimmten Grenzen. Borissow,<sup>2)</sup> der die Geschwindigkeit der Verdauung durch die Menge Eialbumin bestimmte, das in der Zeiteinheit gelöst wurde, kam zu demselben Resultat und Linossier,<sup>3)</sup> der dieselbe Methode von Mett benutzte, bestätigte dies für Pepsin, aber nicht für Trypsin. Julius Schütz, der vor einiger Zeit über dieselbe Frage an gelöstem Eiweiss gearbeitet hat, meint, dass das Gesetz der Quadratwurzel aufhört, sobald die Hälfte des coagulablen Eiweisses verdaut sei<sup>4)</sup> und dass die Schütz'sche Regel einfach als der Ausdruck der Dissociationsformel für den Fall geringfügiger Dissociation anzusehen sei.

Wesentlich andere Resultate wurden durch Methoden gewonnen, in denen die Verdauungslösung auf eine feste Masse von Eiweiss wirkte, deren Oberfläche von allen Seiten zugänglich war. Hier fand Sjöquist,<sup>5)</sup> in Uebereinstimmung mit Brücke, dass die Geschwindigkeit der Pepsinwirkung auf festes Eiweiss (in Sjöquist's Versuchen in fein vertheiltem Zustande) der Menge des Pepsins proportional sei.<sup>6)</sup>

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift Bd. IX.

<sup>2)</sup> Citirt bei Samojloff: Arch. de Sc. Biol., t. 2, p. 699, 1893. Vide Mett, Du Bois-Reymond's Archiv, 1894, S. 68.

<sup>3)</sup> Journal de Physiol., Vol. 1, p. 286, 1899.

<sup>4)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 1, 1900.

<sup>5)</sup> loc. cit. S. 358.

<sup>6)</sup> Weitere Beziehungen für andere Fermente siehe Daclaux, Traité de microbiologie, 1899, pp. 281 und 590. Medwedew, Pflüger's Archiv, Bd. 65, S. 267, 1896.

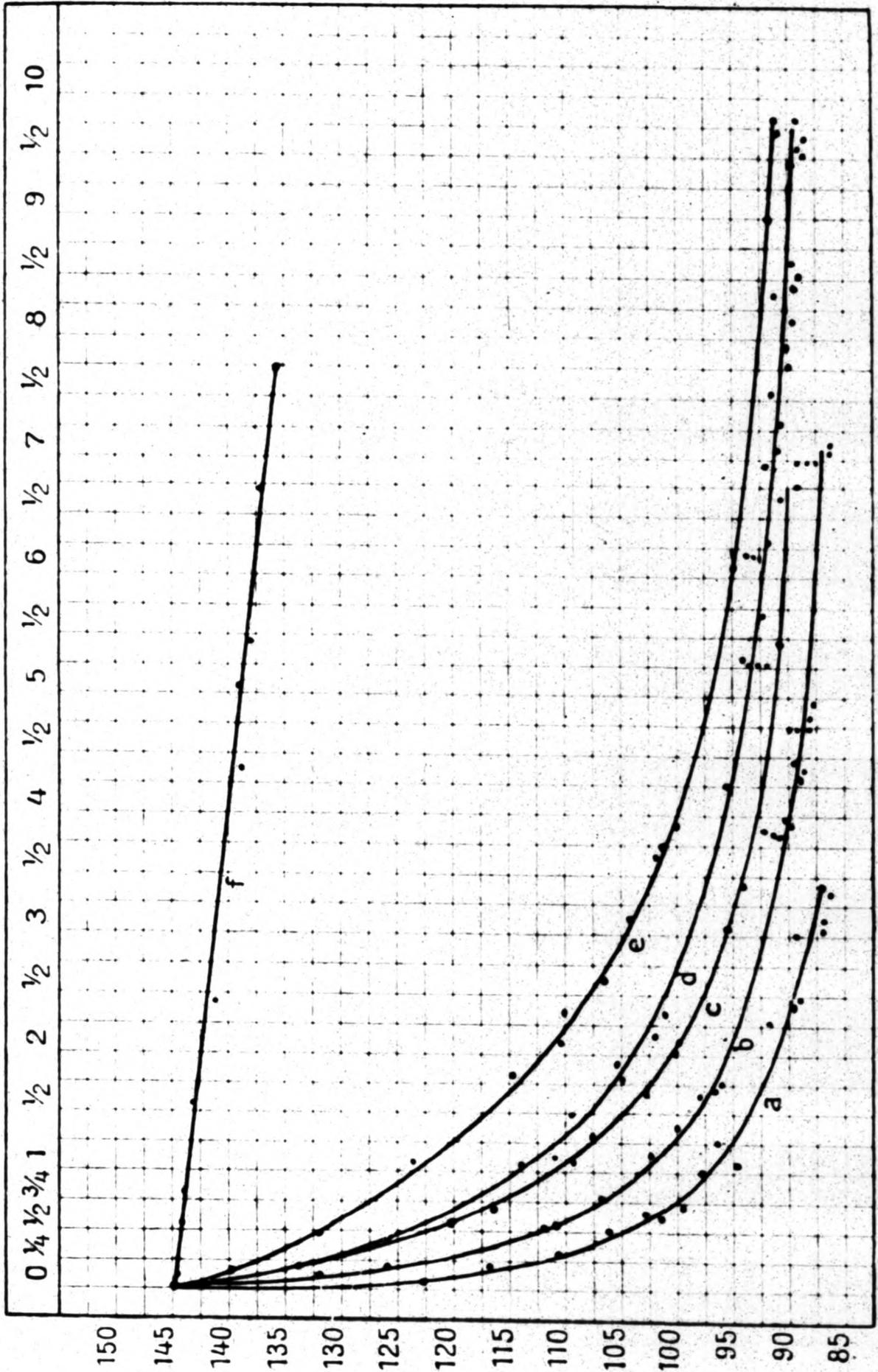


Fig. 5.

In meinen eigenen Versuchen bin ich der Frage auf andere Weise nähergetreten. Anstatt die Zeit als Einheit anzusetzen und den Betrag des gebildeten, resp. gelösten Produktes zu bestimmen, konnte ich die Zeit direkt messen, die

nöthig ist, um eine gewisse Menge hervorzubringen. Könnte die Zeit, die erforderlich ist, ein gegebenes Stadium zu erreichen, einfach als die Umkehrung der Geschwindigkeit der Verdauung angesehen werden, so würden die Resultate meiner Methode direkt vergleichbar mit den oben erwähnten sein: dies ist aber nur dann richtig, wenn die Geschwindigkeit der Verdauung constant ist, obwohl in jeder Verdauung die Zeit zur Erreichung eines gewissen Grades natürlich umgekehrt proportional der mittleren Geschwindigkeit der Verdauung ist.

Die Curven zeigen eine ähnliche Beziehung zwischen der Menge des Pepsins und der Zeit in Secunden; wird die Zeit (in Stunden), bis zur Erreichung einer Durchflusgeschwindigkeit von 83 Secunden, quadriert, so erhält man folgende Zahlen:

A	B	C
10.9	24.0	42.2

und in diesen Lösungen sind die proportionalen Mengen von Pepsin:

4	2	1.
---	---	----

Diese Beziehung zwischen der Pepsinmenge zu dem Quadrat der Zeit ist mit guter Genauigkeit durch den Theil der Curven in Figur 7 wiedergegeben, der von den beiden punktirten Linien eingeschlossen wird. Sie gilt annähernd für die ganze Länge der Curven B und C.

#### 7. Bemerkungen des Herrn Wade.

Können diese Curven mathematisch ausgedrückt werden, so wird man natürlich eine bessere Einsicht in diese Verhältnisse erlangen können; ich war nun glücklich genug, von Herrn Wade, B. Sc., Lecturer in Chemistry am Guy's Hospital, die nöthige Hülfe zu erhalten. Er hat sich mit grosser Liebenswürdigkeit für die Frage interessirt und ich verdanke ihm folgende Bemerkungen:

Die Curven entsprechen gut logarithmischen Curven der Gleichung:

$$y = -k (pt^2)^n,$$

wo  $y$  die Grösse der noch verminderungsfähigen Viskosität bedeutet (die offenbar gleich ist der Menge noch coagulablen Eiweisses).

$p$  ist die relative Stärke des Pepsins,  
 $t$  ist die Zeit in Stunden.

Werden für die Constanten  $k$  und  $n$  beliebige, aber endliche Werte eingeführt und die Menge des Pepsins, die für Curve B benutzt wurde, als Einheit gesetzt, so wurden die folgenden Werthe für  $y$  erhalten:

Curve B $p = 1$			Curve C $p = \frac{1}{2}$		
$t$	Berechnet	Gefunden	$t$	Berechnet	Gefunden
$\frac{1}{4}$	0.62	0.62	$\frac{1}{4}$	Keine Beobachtung	
$\frac{1}{2}$	0.46	0.43	$\frac{1}{2}$	0.55	0.57
1	0.28	0.28	1	0.46	0.43
2	0.12	0.15	2	0.19	0.21
4	0.03	0.03	4	0.07	0.10

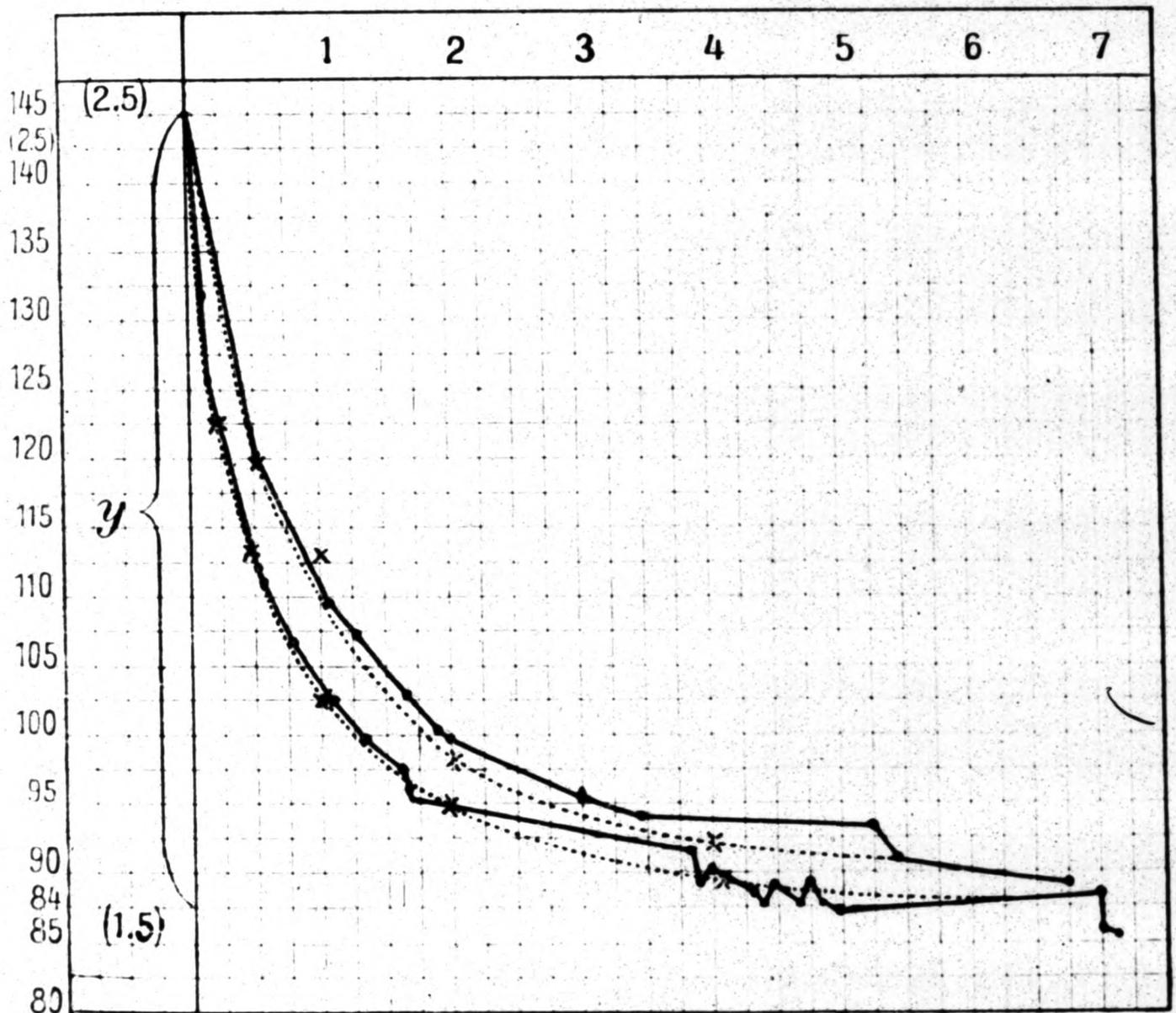


Fig. 9.

In Figur 9 sind 2 punktirte Curven nach der obigen Formel gezogen und mit den wirklich erhaltenen Resultaten verglichen. Diese Curven sind nur als erste Näherungswerthe zu betrachten und die genaue Ausrechnung der Constanten muss verschoben werden, bis die Messungen an genügend und sorgfältig gereinigten Eiweisskörpern wiederholt worden sind. Vielleicht wird sich ja herausstellen, dass die Curven schliesslich mit den gewöhnlichen logarithmischen Curven irreversibler chemischer Wirkung zusammenfallen.

Mit anderen Fermenten sind einige Versuche angesetzt, aber die Erörterung dieser, sowie vieler anderer Fragen, die durch vorstehende Untersuchung angeregt wurden, müssen verschoben werden, bis grössere experimentelle Grundlagen geschaffen sind.

### 8. Zusammenfassung.

1. Die Viskosität einer Lösung von coagulirbarem Eiweiss nimmt während der Verdauung ab.
  2. Eine Abnahme tritt auch bei Abwesenheit von Pepsin durch Salzsäurewirkung allein ein, aber viel langsamer.
  3. Wird die Aenderung der Viskosität während der Verdauung durch eine Curve ausgedrückt, so erweist sie sich zuerst als sehr schnell, dann langsamer und endlich als undeutlich: erreicht die Viskosität Constanz, so ist der grösste Theil der coagulirbaren Eiweisskörper in uncoagulirbare verwandelt.
  4. Proben derselben Eiweisslösung, mit verschiedenen Mengen Pepsin behandelt, enthalten zur Zeit der gleichen Viskosität dieselben Procennte coagulirbares und nicht coagulirbares Eiweiss.
- Die Methode liefert also ein Mittel, um in einer Reihe von Verdauungslösungen die Zeit zu bestimmen, bei der die chemische Veränderung in einer jeden das gleiche Stadium erreicht hat.
5. Aus der Abnahme der Viskosität solcher Lösungen lassen sich Curven construiren, die mathematisch ausgedrückt werden können und die erlauben, die Beziehungen zu bestimmen, die zwischen Menge der angewandten Pepsinlösung (oder dem Pepsingehalt verschiedener Pepsinlösungen) und Geschwindigkeit der Verdauung bestehen.