

# Zur Frage nach der Wirkung der Alkalien auf das Eiweißferment des Magensaftes.<sup>1)</sup>

Von

Dr. med. N. P. Tichomirow.

(Aus dem physiol. Laboratorium des Institutes für experim. Medizin zu St. Petersburg.)  
(Der Redaktion zugegangen am 3. Februar 1908.)

Bis in die allerneuste Zeit wurde die proteolytische und die milchkoagulierende Wirkung des Magensaftes zwei verschiedenen Eiweißfermenten dieses Saftes zugeschrieben, nämlich dem Pepsin und dem Labferment. Diese Ansicht, die sich auf die unzweifelhafte Gegensätzlichkeit der Wirkung dieser beiden Fermente gründete, wurde noch durch einige Isolierungsverfahren dieser Fermente unterstützt. In letzter Zeit jedoch tauchte die Frage über die Identität des Pepsins und des Labfermentes auf. Nach einigen vorausgegangenen Mitteilungen wurde im Jahre 1904 von Professor J. P. Pawlow<sup>2)</sup> eine mit Parastschuk gemeinsam ausgeführte Arbeit veröffentlicht, worin die Verfasser auf Grund einer Reihe von Versuchen die Ansicht durchführen, daß das Pepsin und das Labferment nicht als zwei verschiedene Fermente erscheinen, sondern nur verschiedene Funktionen eines Eiweißfermentes darstellen, das auf solche Weise über eine doppelseitige Wirkung verfügt. In derselben Arbeit wird eine faktische Kritik der Isolierungsmethoden des Pepsins und Labferments, die von Glaessner und Hammarsten vorgeschlagen wurden, angeführt.

<sup>1)</sup> Vorläufige Mitteilung in der Gesellschaft russischer Ärzte in St. Petersburg, Sitzungsprotokolle der Gesellschaft über das Jahr 1904—1905, Bd. LXXII, S. 42 (russisch).

<sup>2)</sup> Prof. J. P. Pawlow und S. W. Parastschuk, Über die ein und demselben Eiweißfermente zukommende proteolytische und milchkoagulierende Wirkung verschiedener Verdauungssäfte. Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 415.

Eine der von Hammarsten vorgeschlagenen Methoden zur Isolierung des Pepsins vom Lab besteht in folgendem: Eine mit Salzsäure bereitete und darauf neutralisierte Infusion der Magenschleimhaut vom Kalbe wird wiederholt mit neuen Mengen Magnesiumcarbonat geschüttelt, bis das Pepsin ausgefällt worden ist.<sup>1)</sup> Das Lab muß also auf solche Weise in der Lösung bleiben, die nun frei von Pepsin ist, das durch das Pulver  $MgCO_3$  in den Niederschlag gezogen und mit diesem zusammen abfiltriert wird. Bezieht sich dieser Hammarstensen Methode hat Pawlow<sup>2)</sup> gezeigt, daß die Wirkung des  $MgCO_3$  auf den Saft, die zu einem Verschwinden des Pepsins aus dem Filtrat führt, nicht von einem mechanischen Auszug des Pepsins in den Niederschlag abhängt, sondern von einer Sättigung des Saftes mit Alkali. Das kohlen saure Magnesium ist allerdings wenig löslich, aber nach dem Schütteln des neutralisierten Saftes mit dem Pulver  $MgCO_3$  hat die abfiltrierte Flüssigkeit eine alkalische Reaktion. Ein solcher alkalisierte Saft besitzt tatsächlich eine ziemlich starke koagulierende Wirkung: wird er angesäuert und zur Verdauung gestellt, so zeigt er eine sehr geringe Verdauungskraft. «Es wurde also klar», wird weiter in der schon zitierten Arbeit von Pawlow und Parastschuk<sup>3)</sup> gesagt, «daß der Mechanismus der in der ersten Phase der Hammarstensen Methode zu beobachtenden Erscheinungen ein durchaus anderer ist, als wie man ihn sich bis jetzt vorstellte. In Wirklichkeit war er nichts weiter, als die schon längst bekannte Zersetzung oder chemische Veränderung des Fermentes unter Einwirkung von Alkalien». Ferner hat Pawlow gezeigt, daß, wenn man diesen alkalisierten Saft mit Salzsäure neutralisiert, ihn in neutraler Reaktion einige Zeit verbleiben läßt und dann ansäuert, auch seine Verdauungskraft bedeutend erhöht wird.

Dieser eigenartige Einfluß der Alkalien auf das Ferment des Magensaftes hat die Aufmerksamkeit der Forscher schon mehrmals auf sich gelenkt und die meisten Autoren haben den

<sup>1)</sup> Hammarsten, Lehrbuch der physiolog. Chemie, 1907, S. 363.

<sup>2)</sup> J. P. Pawlow und Parastschuk, loc. cit., S. 439 u. f.

<sup>3)</sup> J. P. Pawlow und Parastschuk, loc. cit., S. 441.

Alkalien eine zerstörende Wirkung auf das Pepsin und auch auf das Labferment zugeschrieben.

Kühne<sup>1)</sup> weist darauf hin, daß das Pepsin bei langem Stehen sogar mit stark verdünnten Alkalien zerstört wird.

Langley<sup>2)</sup> berührte, nachdem er durch seine histologischen und physiologisch-chemischen Untersuchungen die Existenz von Pepsinogen in der Magenschleimhaut verschiedener Tiere nachgewiesen und auf die Art des Überganges von Pepsinogen in wirkendes Pepsin hingewiesen hatte, auch die Frage über die Einwirkung der Alkalien auf diese zwei Zustände des Ferments. Indem er die peptische Kraft seiner Lösungen nach der Grütznerschen kolorimetrischen Methode untersuchte, fand Langley, daß das Pepsin sehr schnell durch 0,5—1%ige Lösungen kohlen-sauren Natrons zerstört wird, während das Pepsinogen diesen Lösungen ziemlich stark widersteht. Der Autor untersuchte auch die zerstörende Wirkung der Lösungen von  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  auf das Labferment und zeigte, daß, abgesehen von der bekannten zerstörenden Wirkung der ätzenden Alkalien auf das Labferment,<sup>3)</sup> die Sodalösungen dieses Ferment auch stark zerstören.

Nach einigen Jahren erschien eine gemeinsame Arbeit Langleys und Edkins,<sup>4)</sup> in der die Frage über die relative Wirkung verschiedener Stoffe auf das Pepsinogen und Pepsin genauer betrachtet wird. Die Autoren untersuchten die Wirkung der Alkalien und bestätigten die früheren Resultate Langleys, nämlich, daß die zerstörende Wirkung der Alkalien auf das

<sup>1)</sup> Kühne, Über das Verhalten verschiedener organisierter und sogen. ungeformter Fermente, Verhandlungen des Naturhist.-mediz. Vereins zu Heidelberg, 1877, Bd. I, S. 190.

<sup>2)</sup> Langley, On the destruction of ferments in the alimentary canal, Journ. of Physiol., 1882, Vol. III, p. 246.

Langley, On the histology of the mammalian gastric glands and the relation of pepsin to the granules of the chief cells, Journ. of Physiol., 1882, Vol. III, p. 269.

<sup>3)</sup> Hammarsten, Über die Milchgerinnung und die dabei wirkenden Fermente der Magenschleimhaut, Malys Jahresber., 1872, Bd. II, S. 121.

<sup>4)</sup> Langley and Edkins, Pepsinogen and pepsin, Journ. of Physiol., 1886, Vol. VII, p. 371.

Pepsin bedeutend stärker ist, als auf das Pepsinogen; das Vorhandensein von Eiweißstoffen in der Lösung wirkt dem zerstörenden Einfluß der Sodalösungen auf das Pepsin entgegen. Dabei weisen die Autoren darauf hin, daß dagegen das Kohlendioxid gas vernichtender auf das Pepsinogen wirkt und schwächer auf das Pepsin.

Herzen<sup>1)</sup> fand, indem er die Resultate der Arbeiten Langleys bestätigte, außerdem noch, daß  $\text{CO}_2$  die Fähigkeit besitzt, die unter dem Einfluß der Alkalien verschwundene Wirkung des Pepsins auf das Eiweiß wieder herzustellen. Auf Grund dieser Tatsache gelangt Herzen zu der Schlußfolgerung, daß die Alkalien das Pepsin nicht zerstören, sondern es modifizieren, indem sie es in einen unwirksamen Zustand versetzen; die Kohlensäure aber besitzt die Eigenschaft, es aus diesem Zustande wieder in einen wirksamen Zustand zurück zu versetzen.

Fermi und Pernossi<sup>2)</sup> gelangten, indem sie in ihren Untersuchungen die Frage über die Wirkung der Alkalien auf das Pepsin berührten, zu Schlußfolgerungen, die bei weitem nicht mit den Resultaten der Arbeiten der vorhergehenden Autoren übereinstimmen. Sie resumieren, ohne genaue Protokolle und Tabellen über ihre Versuche anzuführen, ihre Resultate folgendermaßen: das Pepsin verliert, wenn es der Wirkung der Lösungen  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  bis zu 30% fünf Tage lang ausgesetzt wird, seine Wirkung nicht; Ätzkali in einer Konzentration von 1% zerstörte das Pepsin im Verlauf von 24 Stunden, aber eine Ätzkalilösung von 0,25% zerstörte das Pepsin nicht im Verlauf mehrerer Tage.

Schließlich wurde von Bang,<sup>3)</sup> wenn man sich so ausdrücken kann, eine vergleichende alkalische Probe an zwei Labfermenten angewendet, und zwar am Parachymosin und

<sup>1)</sup> Herzen, Über die Wirkung der Alkalien auf das Pepsin, *Annali di chim. e di farmac.*, Bd. VIII, S. 302, zitiert nach Malys Jahresber., 1888, Bd. XVIII, S. 193.

<sup>2)</sup> Fermi und Pernossi, Über die Enzyme, *Zeitschrift f. Hygiene und Infektionskrankheiten*, 1894, Bd. XVIII, S. 105.

<sup>3)</sup> Bang, Über Parachymosin, ein neues Labferment, *Pflügers Archiv*, 1900, Bd. LXXIX, S. 434.

Chymosin. Bang fand, daß Parachymosin leichter durch Ätzkali zerstört wird als Chymosin.

Die vorliegende Arbeit, die von uns auf den Vorschlag des hochverehrten Professors J. P. Pawlow ausgeführt wurde, hatte als Aufgabe die weitere Ausarbeitung der Frage über den Einfluß der Alkalien auf das Eiweißferment des Magensaftes.

Bei unseren Untersuchungen benutzten wir ausschließlich reinen Magensaft von Hunden, der durch die Methode der sogenannten Scheinfütterung von Hunden, die eine Magenlistel und eine durchschnittene Speiseröhre hatten, gewonnen wurde. Der saure normale Saft wurde meistens mit  $\text{NaHCO}_3$ -Pulver neutralisiert, und dieser mit schwachem<sup>1)</sup> Alkali neutralisierte Saft erschien als der ursprüngliche in unseren Versuchen. Die neutrale Reaktion wurde nach Lackmoid hergestellt. Hierauf alkalisierten wir den neutralen Saft mit folgenden Alkalien:  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{MgCO}_3$  und schließlich mit Lösungen  $\text{NaOH}$  in verschiedenen Konzentrationen. Wir versuchten verschiedene Abstufungen der Alkaleszenz: von der allergeringsten bis zu einer Alkaleszenz, die bei der Titration im folgenden zum Ausdruck kam: 2 ccm 0,5%ige  $\text{HCl}$  auf 1 ccm Saft, der mit  $\text{NaHCO}_3$  alkalisiert war. Zur Bestimmung der Verdauungskraft benutzten wir Eiweißstäbchen, die koaguliertes Eiweißalbumin enthielten und nach der Mettschen Methode vorbereitet waren. Zur Bestimmung der Koagulationskraft diente als Objekt rohe Milch, gewöhnlich in einer Quantität von 10 ccm. Die Gerinnung wurde in einem Wasserthermostaten bei  $38^\circ \text{C}$ . ausgeführt. Alle zu den Versuchen benutzten Gefäße wurden vorher ausgekocht.

In allen Fällen, nur die Säfte mit der allergeringsten Alkaleszenz ausgenommen, führte die Ansäuerung des alkalischen Saftes zur Bildung eines groben amorphen Niederschlages, der sich allmählich am Boden des Probiergläschens ansammelt. An den Eiweißstäbchen zeigte sich die proteolytische Wirkung eines solchen Saftes gleich Null oder nur in ganz geringen Spuren, seine koagulierende Wirkung jedoch auf die Milch war eine ziemlich bedeutende. Dementsprechend müßte man denken,

<sup>1)</sup> J. P. Pawlow und Parastschuk, loc. cit., S. 434.

daß bei der letztgenannten Reaktion irgendwelche Nebenbedingungen vorhanden seien, die die Entwicklung des Ferments begünstigen. Zuerst mußte man seine Aufmerksamkeit auf das Vorhandensein einer ziemlich bedeutenden Eiweißmenge in der Milch lenken, auf deren schützende Rolle dem der Wirkung des Alkalis unterworfenen Ferment gegenüber sich auch bei Langley<sup>1)</sup> Hinweise finden. Wir stellten in dieser Richtung mehrere Versuche an, die darin bestanden, daß man in dem sauren Magensaft eine gewisse Menge Fibrin verdauen ließ; dann neutralisierte man diesen Saft mit Soda, alkalisierte ihn und säuerte ihn dann an. In der Tat erwies sich, daß der Übergang aus der alkalischen Phase in die saure nicht so vernichtend auf die Verdauungskraft des Fermentes eines solchen mit gelöstem Eiweiß gesättigten Saftes einwirkt, im Vergleich zu dem reinen Saft, der kein Fibrin verdaut hatte. Wir setzten jedoch diese Versuche nicht fort, und zwar aus dem Grunde, weil der hemmende Einfluß der Verdauungsprodukte des Fibrins auf die proteolytische Wirkung des Fermentes uns der Möglichkeit beraubte, die wirkliche Kraft der proteolytischen Funktion des Fermentes genau zu bestimmen.

Darum hielten wir uns bei zwei anderen Umständen auf, welche die Gerinnung der Milch durch das Ferment begleiten: 1. die neutrale, oder der neutralen nahekommende Reaktion der Milch und 2. die sie begleitende Temperatur des Thermostaten, in das die Probiergläschen mit der Milch zwecks Bestimmung der koagulierenden Kraft des Saftes gestellt wurden.

Der Einfluß der ersten Bedingung, der neutralen Reaktion, auf die Entwicklung der proteolytischen Wirkung des Ferments des angesäuerten Saftes ist in der Arbeit Pawlows und Parastschuks erwähnt.<sup>2)</sup> Wir untersuchten den Einfluß dieser Bedingung auf beide Funktionen des Ferments: die proteolytische und milchkoagulierende, gleichzeitig. Einen der hierher gehörigen Versuche führe ich hier an.

100,0 ccm Magensaft wurden durch Einschütten von

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

<sup>2)</sup> l. c., S. 442 u. f.

NaHCO<sub>3</sub>-Pulver neutralisiert. Ein Teil des Saftes wurde durch weitere Hinzufügung von NaHCO<sub>3</sub> alkalisiert. Der Grad der Alkaleszenz des erhaltenen Saftes wurde durch Titration mit 0,5%iger Salzsäure bestimmt. Der Titration nach war der alkalische Saft neutralisiert: zu 15,0 ccm alkalischen Saftes waren hinzugefügt 14,1 ccm 0,5%ige HCl. Ob die Neutralisation eine vollkommene war, wurde mit Lackmoid geprüft. Nach verschiedenen Zeiträumen nahm man je 1,0 ccm Saft, der nach der Alkalisierung neutralisiert worden war und bei Zimmertemperatur gestanden hatte, und säuerte ihn durch Hinzufügung von 4,0 ccm 2%iger HCl an. Zur Kontrolle diente der neutrale ursprüngliche Saft, der keiner Alkalisierung unterworfen worden war: dieser wurde in demselben Maße verdünnt und angesäuert, wie der andere Saft, den man der Wirkung des Alkalis ausgesetzt hatte: zu 3,0 ccm neutralen Saftes wurden 2,82 ccm destillierten Wassers hinzugefügt und dann verdünnte man 1,0 ccm dieser Mischung in 4,0 ccm 0,2%iger HCl.

Tabelle I.

Nr.	Dauer des neutralen Zustandes vor der An-säuerung	Verdauungs-kraft in mm des Eiweiß-stäbchens (Mett) nach 16 St. 30 Min.	Quadrate der mm des Eiweiß-stäbchens (Schütz-Boris-sow)	Verhält-nisse der Quadrate (Schütz-Boris-sow)	Zeit der Milch-gerinnung in Minuten und Sekunden	Zeit-verhältnis der Milch-gerinnung
1	30 Sek.	0,0	0,0	∞	57 M. — S.	13,7
2	5 Min.	Spuren	0,0	∞	—	—
3	15 „	„	0,0	∞	—	—
4	30 „	0,4	0,16	159	58 M. — S.	13,9
5	1 Std.	0,8	0,64	40	—	—
6	2 „	1,0	1,0	25	—	—
7	3 „	1,15	1,32	19	45 M. — S.	10,8
8	4 „	1,45	2,10	12	—	—
9	5 „	1,45	2,10	12	—	—
10	6 „	1,45	2,10	12	39 M. 30 S.	9,5
11	—	5,05	25,5	1	1 „ 35 „	1

Die Nummern 1—10 bezeichnen den Saft, den man der Wirkung von Alkali unterworfen hat. No. 11 bezeichnet den Kontrollsaft. Wenn wir die Tabelle betrachten, so sehen wir, daß der Saft, je länger er nach der Alkalisierung in neutraler Form bei Zimmertemperatur steht, er eine um so größere proteolytische Kraft zeigt, wobei nach 4stündigem Stehen in neutraler Form das weitere Anwachsen der proteolytischen Kraft zum Stillstand kam. Nehmen wir die Quadrate der Verdauungszahlen und bestimmt man nach dem Schütz-Borissowschen Gesetze das Verhältnis zwischen dem Quadrat, das dem Kontrollsaft entgegensteht, einerseits, und den Quadraten der Verdauungszahlen der alkalischen Säfte andererseits, so werden wir sehen, daß es nach der Einwirkung des Alkalis auf den Saft gelungen ist, nicht mehr als  $\frac{1}{12}$  des früher im Saft vorhandenen Ferments wiederherzustellen. Einige Portionen dieser Reihe wurden auf Milchgerinnung untersucht. Zu 10,0 ccm Milch, die vorher 25 Minuten lang im Thermostaten gewärmt worden war, fügte man je 1,0 ccm desselben angesäuerten Saftes hinzu, dessen proteolytische Wirkung man untersucht hatte. Es ergab sich, daß auch die Koagulationskraft parallel mit der proteolytischen Kraft anwächst. Aber nur parallel: obgleich in den letzten Portionen (No. 10) eine bedeutende Annäherung beider Funktionen beobachtet wurde, gab es doch keine vollkommene Proportionalität. Die milchkoagulierende Wirkung überholte überall die proteolytische.

Ich muß hier noch hinzufügen, daß die Säure, die man in einen solchen nach der Alkalisierung neutralisierten Saft eingoß, gewissermaßen das ganze schon zur Entwicklung gelangte Ferment fixierte. Wir stellten dieselbe Reihe mit Saft gefüllter Probierröhrchen wiederholt zur Verdauung, ließen wiederholt Milch koagulieren — die Verhältnisse blieben immer wie früher.

Da wir in der Dauer der neutralen Reaktion kein Mittel fanden, das Ferment vollkommen wiederherzustellen und eine vollkommene Proportionalität seiner beiden Funktionen zu erreichen, so vereinigten wir mit der neutralen Reaktion die Temperatur des Thermostaten. Der mit  $\text{NaHCO}_3$  alkalisierte und dann mit 0,5%iger  $\text{HCl}$  neutralisierte Saft wurde in zwei Portionen geteilt: die eine stellte man in einen Wasserthermo-

stagen, die andere (Kontrollportion) blieb bei Zimmertemperatur stehen. Nach gewissen Zeiträumen nahm man Saft aus beiden Portionen in einer Menge von 1,0 ccm und verdünnte ihn in 4,0 ccm 0,2%iger HCl. Es ergaben sich folgende Resultate:

Tabelle II.

Dauer des neutralen Stadiums	Verdauungskraft in mm (Mett) nach 18 Stunden 30 Min.	
	Neutrales Stadium bei Zimmertemperatur	Neutrales Stadium bei der Temperatur des Thermostaten
5 Min.	0,2	—
11 »	0,45	0,7
15 »	0,4	0,75
25 »	0,85	0,95
50 »	1,1	1,0
2 Stunden — »	1,55	1,05
2 » 40 »	—	0,75
2 » 55 »	1,4	0,3

Wir sehen also, daß in der ersten Zeit die Temperatur des Thermostaten im Vergleich zur Zimmertemperatur tatsächlich die sich entwickelnde Wirkung der neutralen Phase verstärkt und die Entwicklung des Ferments antreibt, später aber schadet der Thermostat schon der Entwicklung des Ferments und führt die Verdauungskraft auf Null zurück.

Indem wir die Alkalisierung des Magensaftes mit nachfolgender Neutralisation ausführten und uns bestrebten, die Bedeutung der neutralen Phase für die Entwicklung des Ferments aufzuklären, beschlossen wir gleichzeitig, den Einfluß einer vorangegangenen Neutralisation auf die Entwicklung des Ferments in Säften zu prüfen, die alkalisch, aber pepsinhaltig abgesondert werden. Zu diesem Zwecke benutzten wir Saft von einem in unserem Laboratorium befindlichen Hunde, dessen Pylorus isoliert war. Der aus dem isolierten Teil ausfließende Saft war alkalisch, verdaute aber das Eiweiß nur in saurem Medium und am besten bei einer schwachen Acidität. Der Ver-

such wurde mit der Titration des gesammelten Saftes durch 0,5%ige HCl begonnen. Ein Teil des Saftes wurde der Titration nach neutralisiert, in neutralem Zustande bei Zimmertemperatur einige Zeit stehen gelassen und dann bis zu einer Acidität von 0,17% HCl angesäuert. In die andere Portion des Saftes wurde auf einmal die ganze zur Neutralisation erforderliche Säuremenge, sowie auch die zur Ansäuerung notwendige Säure in gleicher Menge wie bei der ersten Portion eingegossen. In der angeführten Tabelle waren beide Portionen 2,4 mal verdünnt und enthielten eine Acidität von 0,17% HCl.

Tabelle III.

Der Saft stand in neutralem Zustande bis zur Ansäuerung	Verdauungskraft in mm (Mett) nach 18 Std. 50 Min.	Quadrate der Verdauungszahlen (Schütz und Borissow)	Relative Fermentmenge nach der proteolytischen Wirkung	Relative Fermentmenge nach d. milchkoagulierenden Wirkung
2 Std. 47 Min.	4,5	20,25	2,25	1,84
—	3,0	9,0	1	1

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die Saftportion, die erst durch die neutrale Phase hindurchgeführt worden war, eine größere Verdauungskraft zeigte, als die mit einem Male, ohne vorherige Neutralisation angesäuerte Portion. Die Probe mit der Milchgerinnung ergab ein ebensolches Resultat. Während die Durchführung durch die neutrale Phase die Menge des Ferments nach der proteolytischen Wirkung um 2,25 mal vergrößerte, so vermehrte sich fast um ebensoviel mal auch die Fermentmenge, die nach der milchkoagulierenden Wirkung bestimmt wurde, nämlich um 1,84 mal.

So ist also die Tatsache klar: die Durchführung des pylorischen Saftes durch das neutrale Stadium erhöht dessen proteolytische und milchkoagulierende Wirkung ganz empfindlich. Diese Tatsache ist bis zu einem gewissen Grade jener Rolle analog, die die neutrale Phase im Falle des alkalisierten Magensaftes spielt. Es ist jedoch auch ein Unterschied vorhanden: wenn wir den pylorischen Saft auf einmal angesäuert hatten, so entdeckten wir immer darin eine ziemlich bedeutende

proteolytische Wirkung. Dies finden wir bei der Ansäuerung des alkalischen Magensaftes nicht, wenn seine verdauende Wirkung fast Null gleichkommt. Man muß annehmen, daß die Ursache dieses Unterschiedes darin liegt, daß der pylorische Saft eine Masse Schleim enthält, der gewissermaßen das Ferment einhüllt. Die zu einem solchen Saft hinzugegossene Salzsäure kommt nicht sogleich mit dem Ferment in Berührung: dieses wird auf einige Zeit von der Säure durch eine Schicht Schleim abgeschlossen, in deren Masse sich nach und nach jene neutrale Phase bildet, die zur Entwicklung des Ferments bei seinem Übergang aus der alkalischen Reaktion in die saure erforderlich ist.

Ich gehe wieder zur Frage betreffs der Wirkung der Alkalien auf den sauren Magensaft über. Indem wir den alkalisierten Magensaft durch verschiedene Verfahren neutralisierten, bemerkten wir noch folgenden Umstand: es ergab sich, daß sich ein empfindlicher Unterschied darin zeigte, ob zu dem alkalischen Saft alle zur Neutralisation erforderliche Säure auf einmal hinzugegossen wurde, oder ob man sie nach und nach in Portionen hinzufügte, z. B. im Verlaufe von 30 Minuten. In letzterem Falle erwies sich die Entwicklung des Ferments bedeutender, als im ersten Falle.

Trotzdem konnten wir, wenn wir den alkalisierten Saft durch die neutrale Reaktion hindurchgehen ließen und dabei uns der günstigsten Bedingungen bedienten: einer langsamen Neutralisation, eines andauernden Stehens in neutralem Stadium, keine vollkommene Übereinstimmung erhalten, keine vollkommene Proportionalität der proteolytischen und milchkoagulierenden Wirkung eines solchen Saftes.

Natürlich wurde nun die Frage aufgeworfen: vielleicht wäre es besser, wenn man den alkalisierten Saft in keine neutrale Reaktion versetzte und ihn in keiner solchen verbleiben ließe, sondern ihn in eine derselben nahe kommende, eine leicht saure oder leicht alkalische Reaktion brächte? Wir stellten auch in dieser Richtung Versuche an.

Zu alkalisiertem Saft gab man etwas mehr Salzsäure hinzu, als zu dessen Neutralisation erforderlich war; auf diese

Weise erhielten wir aus einem alkalischen Saftes einen leicht sauren Saft. Man ließ diesen einige Zeit in dieser Form stehen, säuerte ihn dann mit der gewöhnlichen Säuremenge und stellte ihn mit Eiweißstäbchen in den Thermostaten. Es ergeben sich negative Resultate: die Verdauungskraft eines solchen Saftes war eine äußerst geringe.

Dann gingen wir von der neutralen Reaktion auf die andere Seite über; zu dem alkalischen Saftes wurde weniger HCl hinzugefügt, als zur Neutralisation erforderlich war. Bei der Ausführung einer solchen partiellen Neutralisation der im Saftes vorhandenen Alkaleszenz und bei der Variation ihres Umfanges fanden wir, daß die Beseitigung von 0,6—0,9 der im Saftes vorhandenen Alkaleszenz durch Säure günstigere Bedingungen für die Entwicklung der Fermentwirkung darstellt als eine vollkommene Neutralisation.

Um die Bedeutung dieser Bedingung für die Entwicklung des Ferments genauer aufzuklären, wurde eine Reihe NaOH-Lösungen in gesteigerter Konzentration hergestellt. Parallel mit dieser Reihe hatte man eine Reihe Lösungen, die denen der ersten Reihe äquivalent waren, von 0,05 % bis 0,4 % HCl. Auf diese Weise konnten wir, nachdem wir z. B. 1,0 ccm von einer unserer Alkalilösungen genommen hatten, diese mit derselben Menge von verdünntem HCl, das der Alkalilösung in der Konzentration entsprach, neutralisieren.<sup>1)</sup>

Der Versuch wurde folgendermaßen ausgeführt. In eine Reihe von Probierröhrchen, die streng neutralen Saft enthielten, wurde die Lösung NaOH hinzugegossen (gewöhnlich auf 2,0 ccm neutralen Saftes 0,5 ccm Lösung NaOH), man führte die partielle oder vollkommene Neutralisation des zu dem Saft hinzugegossenen Alkalis aus, dann wurde der Saft nach verschiedenen Zeiträumen angesäuert, wobei die Verdünnung und die Acidität der erhaltenen Säftes für die ganze Reihe gleich waren, ge-

<sup>1)</sup> Da das Molekulargewicht NaOH fast mit dem Gewicht HCl zusammenfällt, so hatten die äquivalenten Lösungen des einen wie des anderen fast ein und dieselbe Konzentration. Wir müssen jedoch bemerken, daß die Lösungen NaOH entsprechend den Lösungen HCl einer gewissen Konzentration festgesetzt wurden.

wöhnlich waren sie 5mal verdünnt und die Acidität betrug 0,2% HCl. Die Kraft der Eiweißverdauung und der Milchkoagulation wurde aber durch den ursprünglichen, neutralen Saft kontrolliert, der ebenso verdünnt und in demselben Maße angesäuert, aber überhaupt keiner Wirkung des Alkalis unterworfen worden war.

Bei einer solchen Einrichtung der Versuche gelang es uns, genau festzustellen, daß die Beseitigung von 0,6—0,9 des hinzugegossenen Alkalis durch Säure die Entwicklung der Fermentwirkung bedeutend mehr begünstigt, als dies die vollkommene Neutralisation des alkalisierten Saftes tut. Die bedeutendste Wiederherstellung der erloschenen Fermentwirkung wird durch Beseitigung von 0,8 der ursprünglichen Alkaleszenz erreicht. Um aber in diesem Falle das Optimum der Entwicklung der Fermentwirkung zu erreichen, ist ein gewisses langes Stehen des Saftes bei Zimmertemperatur erforderlich, nachdem man  $\frac{8}{10}$  seiner Alkaleszenz neutralisiert hat; bei unseren Versuchen stand er 4—6 Stunden. In einem solchen Falle, wo man kein sehr starkes Alkali genommen hat, wird  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{3}$  des ganzen Ferments wiederhergestellt und außerdem stellt sich auch die Proportionalität der beiden Funktionen des Ferments ein: der proteolytischen und der milchkoagulierenden Funktion.

In der folgenden Tabelle figurirt eine Reihe alkalischer Säfte (Nr. 1—11). In alle diese 11 Probierröhrchen wurden je 2,0 ccm neutralen Magensaftes eingegossen, hierzu fügte man dann in jedem Probierröhrchen je 0,5 ccm NaOH-Lösung, die 0,1% HCl äquivalent war. Alle Säfte standen im alkalischen Zustande 10 Minuten bei Zimmertemperatur, worauf man in alle 11 Probierröhrchen je 0,4 ccm 1%ige HCl hinzugab, d. h. man beseitigte  $\frac{4}{5}$  der Alkaleszenz. In dieser Form standen die Portionen verschiedene Zeit. Sie wurden durch Hinzufügung von 4,0 ccm 0,5%iger HCl + 3,0 ccm Wasser angesäuert, dann fügte man die früher bis zur vollkommenen Neutralisation nicht zugegossene Säure hinzu, d. h. 0,1 ccm 0,1%ige HCl. Auf diese Weise war der Saft überall 5mal verdünnt bei einer Acidität von 0,2% HCl. Nr. 12, der neutrale Kontroll-

saft, war in gleicher Weise wie die anderen verdünnt und angesäuert.

Die proteolytische Wirkung der Lösungen wurde in der üblichen Weise geprüft. Was die Bestimmung der milchkoagulierenden Wirkung betrifft, so verwendete man zu diesem Zwecke 1,0 ccm saure Lösung, die vorher auf Verdauung geprüft worden war, auf 10,0 ccm Milch, die man vorher 30 Minuten lang im Thermostaten erwärmt hatte.

Die Lösungen Nr. 1 und 2 enthielten einen deutlich ausgeprägten Niederschlag, der auf dem Boden der Probiergläschen lag.

Tabelle IV.

Nr.	Dauer des Stehens mit um $\frac{1}{5}$ vermindert Alkalieszenz bis zur Ansäuerung	Proteolytische Wirkung			Milchkoagulierende Wirkung	
		Verdauungskraft in mm des Eiweißstäbchens (Mett) nach 12 Stunden 55 Minuten	Quadrate der Verdauungszahlen	Um wieviel mal die relative Fermentmenge geringer war im Vergleich mit dem Kontrollsaft	Gerinnungszeit in Minuten und Sekunden	Um wieviel mal die relative Fermentmenge geringer war im Vergleich mit dem Kontrollsaft
1	2 Minut.	0,1	0,01	2162,0	19 M. 20 S.	22,3
2	5 „	0,4	0,16	135,1	20 „ — „	23,1
3	30 „	0,9	0,81	26,7	11 „ 35 „	13,4
4	1 Stund.	1,3	1,69	12,8	9 „ 25 „	10,9
5	2 „	1,6	2,56	8,5	6 „ 50 „	7,9
6	3 „	1,95	3,8	5,7	6 „ 5 „	7,0
7	4 „	2,0	4,0	5,4	5 „ 8 „	5,9
8	5 „	2,1	4,41	4,9	4 „ 10 „	4,8
9	6 „	2,05	4,2	5,2	4 „ 25 „	5,1
10	7 „	1,7	2,89	7,5	5 „ 45 „	6,6
11	8 „	1,75	3,06	7,1	5 „ 20 „	6,2
12	—	4,65	21,62	1	— „ 52 „	1

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß in den oberen Reihen, wo es dem Ferment noch nicht gelungen ist, sich zu entwickeln, da es durch die Säure fixiert war, die Differenz zwischen der proteolytischen und milchkoagulierenden Wirkung

eine gewaltige ist. Hierbei ist, wie immer in solchen Fällen, die milchkoagulierende Wirkung stärker ausgeprägt als die proteolytische. Gehen wir weiter nach unten, so sehen wir eine allmähliche Annäherung und endlich ein vollständiges Zusammengehen der beiden Funktionen, siehe Nr. 7, 8 und 9. Auf diese Weise erreichten wir augenscheinlich eine möglichst vollkommene Wiederherstellung des Ferments, weil das Medium der Milch von selbst nichts in der Richtung zur Verstärkung der Fermentwirkung beitrug.

Andererseits aber zeigt dieselbe Zifferreihe, bis zu welchem Grade es leicht ist, eine Differenz der beiden Funktionen zu erhalten: man braucht aus dieser Reihe nur willkürlich irgend welche Ziffern auszuschalten, und man kann mit ihnen darauf hinweisen, daß die Verdauung stärker ausgeprägt ist, als die Koagulation und umgekehrt, daß die koagulierende Kraft stärker ist als die proteolytische. Da aber die Portionen mit dem entwickelten Ferment denjenigen Portionen, in denen die Fermententwicklung noch nicht gelungen ist, durch einen verhältnismäßig kurzen Zeitraum getrennt sind, in dessen Verlauf das Stehen des Saftes mit verminderter Alkaleszenz die Entwicklung des Ferments vorbereitet, so ist es nicht schwer zu sehen, wie leicht man in einem solchen Falle in einen Irrtum geraten kann, indem man die eine Funktion des Ferments auf Kosten der anderen überschätzt.

Jene Proportionalität aber, die gegen das Ende hin auf der Hand liegt, tritt bei einer anderen Einrichtung des Versuches, deren Schema in der zitierten Arbeit J. P. Pawlows und Parastschuks<sup>1)</sup> angeführt ist, noch deutlicher hervor. Nachdem wir in einer Reihe, die der in Tabelle IV angeführten ähnlich ist, jene Portionen angemerkt haben, die das Optimum der Entwicklung der Fermentwirkung darstellen, bestimmen wir unter Benützung des Schütz-Borissowschen Gesetzes die relativen Fermentmengen in diesen Portionen, wobei wir zur Vergleichung unseren Kontrollsaft benutzt haben. Dann nehmen wir die ihrem Fermentgehalt nach äquivalenten Mengen

<sup>1)</sup> loc. cit., S. 430.

dieser Säfte, und nachdem wir deren Säuregehalt und Verdünnung ausgeglichen haben, koagulieren wir mit ihnen Milch.

Der folgende Versuch wurde mit derselben Alkaleszenz, mit derselben Dauer der alkalischen Phase und mit der gleichen Beseitigung von  $\frac{4}{5}$  der Alkaleszenz ausgeführt, wie der in Tabelle IV dargestellte Versuch. No. 1—3 sind alkalische Säfte, No. 4 ist der Kontrollsaft. Alle haben einen Säuregehalt von 0,2% HCl.

Zur Koagulation nahmen wir je 10,0 ccm Milch, die vorher 20 Minuten lang im Thermostaten erwärmt worden war.

Tabelle V.

Nr.	Dauer des Stehens mit um $\frac{4}{5}$ vermindert Alkaleszenz	Verdauungskraft in mm (Mett) nach 18 Stund.	Quadratrate der Verdauungszahlen	Um wieviel mal die relative Fermentmenge geringer war im Vergleich mit dem Kontrollsaft	Lösungen, die dem Fermentgehalt, der Verdünnung und dem Prozentgehalt HCl nach äquivalent sind		Koagulationszeit in Sekunden
					Dem Fermentgehalt nach äquivalente Mengen des Saftes	Menge des hinzugefügten HCl 0,2%	
1	1 Stunde	2,0	4,0	9,92	—	—	—
2	6 Stunden	2,75	7,56	9,25	1,05	0,0	288
3	7 "	2,85	8,12	4,89	0,98	0,07	300
4	—	6,3	39,69	1	0,2	0,85	292

Nachdem wir also ihrem Fermentgehalt nach äquivalente Lösungen mit gleichem Prozentgehalt HCl hergestellt und sie der Flüssigkeitsmenge nach ausgeglichen hatten, ließen wir mit ihnen Milch gerinnen und erhielten in allen drei verglichenen Portionen fast ein und dieselbe Gerinnungszeit.

Auf diese Weise besteht unzweifelhaft eine Proportionalität beider Funktionen des Fermentes in dem der Alkaliwirkung unterworfenen Saft, die auf zwei Arten zutage tritt. Einerseits finden wir bei der Berechnung der relativen Fermentmengen nach der Verdauungs- und Milchkoagulationskraft der

Lösungen auf Grund gewisser Regeln, solche Portionen, wo diese relativen Fermentmengen, die auf Grund der beiden verschiedenen Funktionen des Ferments berechnet waren, zusammenfallen. Andererseits stellten wir unter Zugrundelegung der Verdauungskraft dieser Portionen Lösungen her, die ihrem Fermentgehalt nach äquivalent waren, und diese zeigen eine gleiche milchkoagulierende Wirkung.

Nach Angabe des Verfahrens für eine möglichst vollkommene Wiederherstellung der Fermentwirkung in einem der Wirkung von Alkali unterworfenen Saft müssen wir uns noch mit einer vergleichenden Analyse aller von uns angewendeten Handgriffe zur Wiederherstellung des Ferments beschäftigen. Wir stehen vor der Tatsache, daß der plötzliche Übergang aus der alkalischen Reaktion in die saure ohne Zwischenstadium zu einem Verschwinden der proteolytischen Wirkung des Ferments führt. Andererseits besitzen wir das Verfahren der größten Wiederherstellung der Fermentwirkung im alkalischen Saft in der Neutralisation von  $\frac{4}{5}$  der Alkaleszenz, wobei es Bedingung ist, daß sich die Dauer der Übergangsphase aus der alkalischen Reaktion in die saure auf 4—6 Stunden bei Zimmertemperatur erstrecken muß. Außerdem aber hatten wir auch andere Fälle einer Wiederherstellung der Fermentwirkung. In allen diesen Fällen war die unumgängliche Bedingung das Vorhandensein eines Zwischenstadiums zwischen dem alkalischen und sauren Zustande des Saftes. Dieses Zwischenstadium aber bestand in einer partiellen oder vollkommenen Neutralisation des Alkalis durch Säure in einem Umfange von  $\frac{3}{5}$ — $\frac{5}{5}$  der im Saft vorhanden gewesenen Alkaleszenz. Auf diese Weise mußten wir bei unseren Handgriffen zur Wiederherstellung der Fermentwirkung im alkalisierten Saft die Bedeutung dreier Übergangsstadien in Betracht ziehen: 1. die alkalische Periode, 2. die Zwischenphase, die in einer Beseitigung von  $\frac{3}{5}$ — $\frac{5}{5}$  der Alkaleszenz des Saftes bestand und 3. die saure Phase, die Phase der Fixierung des entwickelten Ferments durch die Ansäuerung.

Die alkalische Periode beginnt von dem Augenblick der Hinzufügung des Alkalis zu dem neutralisierten Magensaft. Eine sehr

geringe Menge Alkali (z. B. 0,5 ccm 0,05%iger NaOH-Lösung auf 2,0 ccm neutralen Saftes) setzt die Fermentwirkung verhältnismäßig wenig herab, sogar in dem Falle, wenn der Saft hierauf sogleich angesäuert wird, also bei Umgehung der Zwischenphase. Je mehr der Saft mit Alkali gesättigt ist, um so schärfer tritt dessen schadenbringende Wirkung auf das Ferment hervor. Wir hatten nicht die Absicht, jene Grenze der Alkaleszenz festzustellen, über welche hinaus die Wiederherstellung der Fermentwirkung unmöglich wird. Wir hatten jedoch Gelegenheit, uns zu überzeugen, daß eine bedeutende Alkaleszenz des Saftes, die durch Auflösung des Pulvers  $\text{NaHCO}_3$  im Saft erhalten wurde (auf 1,0 ccm alkalisierten Saftes brauchte man zu dessen Neutralisation 2,0 ccm 0,5 %ige  $\text{HCl}$ ), das ganze Ferment nicht unwiederbringlich vernichtete: es gelang uns, einen Teil desselben wiederherzustellen. Die Lösungen NaOH erweisen sich für das Ferment vernichtender, als die Lösungen  $\text{NaHCO}_3$ . Wir erhielten aber eine Wiederherstellung eines Teiles des Ferments, wenn wir den Saft durch Hinzufügung von 0,5 ccm 0,4%iger NaOH-Lösung auf 2,0 ccm neutralen Saftes alkalisierten.

Wenn wir uns mit der alkalischen Periode genauer beschäftigen, so haben wir dabei folgende interessante Tatsache im Auge. Es sollte scheinen, daß, je kürzer die alkalische Periode ist, je weniger Zeit sich das Alkali mit dem Ferment in Berührung befindet, dies um so vorteilhafter für das Ferment sein müßte, und daß ein um so größerer Teil desselben wiederhergestellt werden könnte. Es zeigt sich jedoch, daß dies nicht so ist: die Dauer der alkalischen Periode hat für verschiedene Fälle der Wiederherstellung des Ferments verschiedene Bedeutung.

Wenn wir zur Wiederherstellung des Ferments jenes Verfahren wählen, bei welchem das Zwischenstadium in der Beseitigung von  $\frac{6}{10}$ — $\frac{7}{10}$  der Alkaleszenz durch Salzsäure bestehen wird, so bedingt in diesem Falle die größere Dauer der alkalischen Periode auch eine größere Wiederherstellung des Ferments. Wenn jedoch die alkalische Periode durch ein Zwischenstadium mit einer Beseitigung von  $\frac{4}{5}$  der Alkaleszenz abgelöst werden wird, so erhält die Dauer der alkalischen

Periode schon eine andere Bedeutung: bei unseren Versuchen kam die Dauer des alkalischen Zustandes des Saftes bei Zimmertemperatur bis 2—3 Stunden in diesem Falle in keiner irgendwie empfindlichen Weise zum Ausdruck, weder im Sinne einer Verschlechterung, noch im Sinne einer Verbesserung der Fermentwirkung. Zur Illustration dieser Tatsache führe ich einen unserer Versuche an:

Eine Reihe von Portionen neutralisierten Magensaftes wurde durch Hinzufügung von 0,5 ccm Lösung NaOH, die 0,1% HCl äquivalent war, auf 2,0 ccm neutralisierten Saftes alkalisch gemacht. Nach verschiedenen Zeiträumen (von zwei Minuten bis 1 $\frac{1}{2}$  Stunden) wurde die alkalische Periode in verschiedenen Portionen durch eine partielle Neutralisation des Alkalis durch 0,1%ige Salzsäure unterbrochen; in einer Reihe wurden  $\frac{3}{5}$ , in der anderen  $\frac{4}{5}$  der Alkaleszenz beseitigt. Die Dauer des Zwischenstadiums war bei allen Portionen der beiden Reihen die gleiche, nämlich eine Stunde bei Zimmertemperatur. Das Zwischenstadium wurde durch Ansäuerung unterbrochen, die für alle Portionen gleich war: als Resultat erhielt man Lösungen, die eine 5malige Verdünnung des ursprünglichen Saftes darstellten und die 0,2% HCl enthielten. Nr. 1—7 sind alkalische Säfte, Nr. 8 ist der Kontrollsaft.

Tabelle VI.

Nr.	Dauer der alkalischen Periode	Verdauungskraft in mm des Eiweißstäbchens nach 24 Stunden (Mett)	
		Bei Beseitigung von $\frac{3}{5}$ der Alkaleszenz	Bei Beseitigung von $\frac{4}{5}$ der Alkaleszenz
1	2 Minuten	0,2	2,3
2	5 »	0,1	2,4
3	20 »	0,15	2,15
4	30 »	0,65	2,45
5	45 »	1,2	2,35
6	80 »	1,3	2,35
7	90 »	1,3	2,2
8	Kontrollsaft	6,75	—

Aus dieser Tabelle ist also ersichtlich, daß im Falle einer Beseitigung von  $\frac{4}{5}$  der Alkaleszenz die längere oder kürzere Dauer der alkalischen Periode keinen Einfluß auf die Wiederherstellung des Ferments hat. Wenn jedoch die partielle Neutralisation in einem Umfange von  $\frac{3}{5}$  der Alkaleszenz ausgeführt wird, so entsteht zwischen der Dauer der alkalischen Periode und der Verdauungskraft des wiederhergestellten Ferments ein gerades Verhältnis.

Interessant ist in letzterem Falle der Einfluß der Temperatur des Thermostaten in Verbindung mit der alkalischen Periode auf die Verdauungskraft des Ferments. Da die Dauer der alkalischen Periode als ein begünstigendes Moment im Falle einer Beseitigung von  $\frac{3}{5}$  der Alkaleszenz für die Wiederherstellung des Ferments erscheint, so hätte man erwarten können, daß die alkalische Periode, bei der Temperatur des Thermostaten durchgeführt, Resultate ergeben müßte, die dem in Tabelle II angeführten Falle analog wären. Auf Tabelle II sehen wir, daß die Temperatur des Thermostaten, bei einer kurzen Dauer ihrer Wirkung, im Vergleich zur Zimmertemperatur gewissermaßen die entwickelnde Wirkung der neutralen Phase, durch die wir den alkalischen Saft hindurchgeführt hatten, antreibt. Bei einer längeren Wirkungsdauer aber wird die Temperatur des Thermostaten schon schädlich für die Entwicklung des Ferments. Ein ähnlicher Einfluß der Temperatur des Thermostaten ergibt sich im gegebenen Falle auch auf die alkalische Periode.

Portionenreihe mit neutralisiertem Magensaft. Der Saft wird durch Hinzufügung von 0,5 ccm Lösung NaOH, die 0,1% HCl äquivalent ist, auf 2,0 ccm neutralisierten Saft alkalisiert. Eine Reihe Probierröhrchen mit alkalisiertem Saft wird in den Thermostaten gestellt, die andere Reihe verbringt die alkalische Periode bei Zimmertemperatur. Die Dauer der alkalischen Periode ist verschieden: von 5 Min. bis 6 Stunden. Die alkalische Periode wird durch die Beseitigung von  $\frac{3}{5}$  der Alkaleszenz abgebrochen und in dieser Form gehen alle Portionen in das Zwischenstadium über, das bei allen eine Stunde bei Zimmertemperatur dauert. Dann werden alle Portionen ange-

säuert: als Resultat ergibt sich eine Verdünnung um 5mal bei einem Gehalt von 0,2% HCl.

Tabelle VII.

Dauer der alkalischen Periode	Verdauungskraft in mm des Eiweißstäbchens nach 13 Stunden (Mett)	
	Alkalische Periode bei Zimmertemperatur	Alkalische Periode bei Temperatur des Thermostaten
5 Minuten	0,0	0,15
30 „	0,7	0,8
1 Stunde	0,75	1,05
2 Stunden	1,05	1,25
3 „	1,1	1,2
4 „	1,15	1,15
5 „	1,3	—
6 „	1,35	—

Hier sieht man, wie der Thermostat, besonders bei den ersten Portionen, die Entwicklung des Ferments antreibt und sogar eine lange Zeit (4 Stunden) noch keine schädliche Wirkung auf das Ferment im Vergleich mit der Zimmertemperatur zeigt.

Wenn aber bei Beseitigung von  $\frac{3}{5}$  der Alkaleszenz die Dauer der alkalischen Periode eine günstige Wirkung auf die Fermententwicklung zeigt, wenn bei Beseitigung von  $\frac{4}{5}$  der Alkaleszenz die längere oder kürzere Dauer der alkalischen Periode im Zeitraume bis zu 2—3 Stunden als ein in dieser Beziehung gleichgültiges Moment erscheint, so gewinnt die Dauer der alkalischen Periode eine ganz andere Bedeutung, sobald wir uns einer vollkommenen Neutralisation des alkalischen Saftes und uns nach dieser, der sofortigen Ansäuerung desselben, zuwenden, ohne den Saft vorher durch ein Zwischenstadium hindurch geführt zu haben. Hier entsteht schon zwischen der Dauer der alkalischen Periode und dem Grade der Fermententwicklung ein umgekehrtes Verhältnis. Dieses Verhältnis tritt schon im Falle einer vollkommenen Neutra-

lisation des alkalischen Saftes merklich hervor. Besonders scharf aber ist es in jenem Falle bemerkbar, wenn der alkalische Saft auf einmal angesäuert wird. Wenn der Saft mit NaOH alkalisiert ist, so führt in diesem Falle schon eine sehr kurze Dauer der Alkaliwirkung (einige Minuten) dazu, daß man die Verdauungskraft nach der Ansäuerung nur als nichtige Spuren oder gleich Null (nach der Mettschen Methode) einschätzen muß. Kürzten wir aber die alkalische Periode bis zur äußersten Grenze ab (10—15 Sekunden), so gelang es uns, bei einer direkten Ansäuerung des alkalischen Saftes ohne irgend welche partielle oder vollkommene Neutralisation in demselben eine deutliche, wenn gleich geringe Verdauungskraft zu entdecken.

Diese Erscheinung tritt in noch auffallenderer, deutlicherer Form zutage, wenn man zur Alkalisierung des Saftes eine schwache Lauge nimmt, die langsamer und schwächer wirkt, nämlich die Lösung  $\text{NaHCO}_3$ . Der mit Pulver  $\text{NaHCO}_3$  neutralisierte Magensaft wurde in Portionen auf solche Weise alkalisiert, daß man zu 2 ccm neutralen Saftes 2 ccm Lösung  $\text{NaHCO}_3$  hinzufügte, die der Titration nach 0,5% HCl äquivalent war. Folglich war die Spannung der Alkaleszenz in jeder Portion der Titration nach, Kubik — auf Kubik 0,25% HCl gleich. Die Portionen standen im alkalischen Zustande verschiedene Zeit, von 35" bis 30', dann wurden sie auf einmal angesäuert durch Hinzufügung von 8 ccm 0,5%iger HCl + 3 ccm destillierten Wassers in jeder Portion. Auf solche Weise war der Saft in allen Portionen  $7\frac{1}{2}$  mal verdünnt bei einer Acidität der Lösungen von 0,2%iger HCl. In der angeführten Tabelle sind die Nrn. 1—11 alkalische Säfte; Nr. 12 ist der Kontrollsaft: zu 2 ccm neutralen Saftes sind 6 ccm 0,5%iger HCl + 7 ccm Wasser hinzugefügt — also dieselbe Verdünnung und derselbe Säuregehalt wie in den alkalischen Säften.

Die zerstörende Wirkung des Alkalis sprach sich schon bei Nr. 1 scharf aus, wo die alkalische Periode im ganzen 35 Sekunden dauerte. Dennoch führte in diesem Falle nicht eine Alkaliwirkung, die 15 Minuten dauerte, zu einem Verschwinden der Verdauungskraft des Saftes.

Tabelle VIII.

Nr.	Dauer der alkalischen Periode	Verdauungskraft in mm des Eiweißstäbchens nach 21 Stunden (Mett)	Besondere Bemerkungen
1	— Min. 35 Sek.	1,8	
2	1 » — »	1,24	
3	2 » 30 »	0,74	
4	3 » — »	0,73	
5	4 » — »	0,67	
6	6 » — »	0,52	
7	8 » — »	0,35	
8	12 » — »	0,3	
9	15 » — »	0,1	Die Lösung ist etwas trübe.
10	20 » — »	Spuren	Ebenso.
11	30 » — »	0,0	Starke Trübung und Niederschlag.
12	Kontrollsaft	5,03	

Nachdem wir nun die Betrachtung der alkalischen Periode beendet haben, werden wir jetzt die Bedeutung der zweiten, der Zwischenphase, für die Wiederherstellung des Ferments näher betrachten. Diese Phase beginnt mit dem Augenblick der partiellen oder vollkommenen Neutralisation des Alkalis in einem Umfang von  $\frac{3}{5}$ — $\frac{5}{5}$ . Wie schon erwähnt wurde, erscheint die Existenz dieser Phase und eine gewisse Dauer derselben als unumgängliche Bedingung für eine möglichst vollkommene Wiederherstellung der Fermentwirkung, was besonders scharf an der proteolytischen Funktion des Ferments hervortritt. Es wurde oben darauf hingewiesen, daß die größte Wiederherstellung des Ferments durch Beseitigung von  $\frac{4}{5}$  der Alkaleszenz bei einer Dauer des Zwischenstadiums bis zu 4—6 Stunden bei Zimmertemperatur erreicht wird. In diesem Falle gleicht sich auch die Differenz zwischen der milchkoagulierenden und proteolytischen Funktion des Ferments aus und die vollkommene Proportionalität zwischen beiden wird hergestellt.

Was nun die Bedeutung anbetrifft, die die Dauer der Zwischenphase hat, so besteht in dieser Beziehung kein Unterschied zwischen allen Fällen einer partiellen und vollkommenen Neutralisation. Ob das Zwischenstadium mit der Beseitigung von  $\frac{3}{5}$ ,  $\frac{4}{5}$  oder  $\frac{5}{5}$  der Alkaleszenz beginnt — bei jedem dieser Verfahren wird die höchste Wiederherstellung bei einer Dauer der Zwischenphase bis 5—6 Stunden bei Zimmertemperatur erreicht. Eine längere Dauer der Zwischenphase vermehrt die Menge des entwickelten Ferments nicht und ist für die Wiederherstellung sogar etwas schädlich.

Vereinigt man das Zwischenstadium mit der Temperatur des Thermostaten, so ist der Einfluß der Temperatur in allen Fällen der gleiche: anfangs treibt sie im Vergleich mit der Zimmertemperatur die Entwicklung an, dann aber schwächt sie die wiederherstellende Wirkung dieser Phase ab. Ein solcher Fall ist auf Tabelle II angeführt: eine vollkommene Neutralisation der Alkaleszenz und dann zwei Reihen zur Vergleichung — die eine Reihe verbrachte das Zwischenstadium bei Zimmertemperatur, die andere bei Temperatur des Thermostaten. Hier erlaube ich mir ein ähnliches Beispiel anzuführen, wo die Neutralisation der Alkaleszenz eine partielle war, und zwar im Umfang von  $\frac{4}{5}$  der Alkaleszenz.

Der Versuch wurde in der üblichen Weise durchgeführt. Die alkalische Periode, die für alle Portionen mit Hinzufügung von 0,5 ccm NaOH-Lösung, die 0,1% HCl äquivalent war, zu 2 ccm neutralisierten Magensaftes begonnen worden war, dauerte 10 Minuten bei Zimmertemperatur. Die Zwischenphase begann bei allen Portionen mit der Beseitigung von  $\frac{4}{5}$  der Alkaleszenz und dauerte bei den verschiedenen Portionen von 2 Minuten bis 6 Stunden, wobei eine Reihe das Zwischenstadium bei Zimmertemperatur durchmachte, die andere, die der ersten Reihe parallel war, im Thermostaten. Hierauf wurden alle Säfte in gleicher Weise angesäuert und verdünnt.

In den 2 Portionen der oberen Reihe, deren Zwischenstadium 2 Minuten dauerte, liegt auf dem Boden der Probiergläschen ein grober amorpher Niederschlag. Die übrigen Portionen sind durchsichtig und ein Niederschlag ist darin nicht

bemerkbar. Über diese Tatsache werden wir weiter unten genauer sprechen.

Tabelle IX.

Dauer des Zwischenstadiums	Verdauungskraft in mm des Eiweiß- stäbchens nach 13 Stunden (Mett)	
	Zwischenstadium bei Zimmertemperatur	Zwischenstadium bei der Temperat. d. Thermostaten
2 Minuten	0,1	0,2
30 »	0,9	1,35
1 Stunde	1,3	1,75
2 Stunden	1,6	1,7
3 »	1,95	1,65
4 »	2,0	1,05
5 »	2,1	1,0
6 »	2,05	0,8

Wir gehen jetzt zur dritten Phase über. Ihre Bedeutung besteht darin, daß wir bei Anwendung verschiedener Verfahren zur Wiederherstellung des Ferments, durch Hinzugießung von Salzsäure resp. Ansäuerung der Lösung, das ganze Ferment, dessen Entwicklung gelungen ist, fixieren. Hieraus wird die Bedeutung dieser Phase klar hinsichtlich der vergleichenden Schätzung der verschiedenen Verfahren, die zwecks Wiederherstellung des Ferments angewendet wurden. Aber abgesehen von der Bedeutung der Ansäuerung als Fixator gab uns die Beobachtung der sauren Phase noch eine Tatsache in die Hand, die im allgemeinen nicht schwer wahrzunehmen ist. Bei der Ansäuerung des alkalischen Saftes, der mittels dieses oder jenes Verfahrens durch die Zwischenphase hindurchgeführt, oder aber mit einem Male aus der alkalischen Periode in die saure versetzt worden war, kann man immer bemerken, daß eine schnell auftretende Trübung der Lösung in höherem oder geringerem Grade erscheint. In manchen Portionen verschwindet diese Trübung schnell und die Lösung wird wieder durch-

sichtig, in anderen Portionen hält sich die Trübung länger und schließlich fällt sich auf dem Boden des Probierröschens ein weißer, kleinflockiger Niederschlag aus.

Durch die Versuche ergab sich die Erklärung, daß die größere oder geringere Trübung der Lösung und die Bildung des Niederschlags sich in einer gewissen gesetzmäßigen Abhängigkeit von jener Bearbeitung des alkalischen Saftes befindet, die der Ansäuerung vorausgegangen ist. So trübt sich der alkalische Saft, der nicht durch das Zwischenstadium hindurchgeführt, sondern auf einmal angesäuert wurde, in der sauren Phase sehr schnell und gibt einen Niederschlag. Hierbei erweist sich auch die Verdauungskraft eines solchen Saftes, nach der Mettschen Methode bestimmt, als Null. Dies ist ein Saft, dessen Ferment nicht zur Entwicklung gekommen ist. Wird jedoch der alkalische Saft durch die Zwischenphase hindurchgeführt, wobei jedoch das Ferment sich nicht genügend entwickelt hat (kurze Dauer der Zwischenphase, Verkürzung der alkalischen Periode im Falle einer Beseitigung von  $\frac{3}{5}$  der Alkaleszenz), so ist es schon mit bloßem Auge wahrnehmbar, daß die Trübung der Lösung und die darauffolgende Bildung eines Niederschlags bedeutend schwächer ausgeprägt sind als im ersten Falle. In einem solchen Saftes ist die Verdauungskraft, obgleich schwach, so doch deutlich ausgeprägt. Wir brauchen jedoch nur ein Verfahren zu wählen, das eine genügende Entwicklung des Ferments gewährt, und die Ansäuerung einer solchen Lösung ruft dann nur eine flüchtige, unbedeutende Opaleszenz hervor, die bald verschwindet, ohne irgend einen Niederschlag zu bilden. Die Verdauungskraft eines solchen Saftes ist schon ziemlich bedeutend.

Es ist klar, daß in dem alkalisierten Saftes, in einem Saftes, dessen Ferment aus dem tätigen Zustande in den latenten versetzt worden ist, bei der darauf folgenden Bearbeitung mit Salzsäure irgend ein chemischer Prozeß vor sich geht. Als äußeres Kennzeichen dieses Prozesses erscheint die Trübung der Lösung in der sauren Phase mit der darauf folgenden Bildung eines Niederschlages oder auch einer Klärung, je nach der vorangegangenen Bearbeitung. Als anderes Kennzeichen

dieses Prozesses erscheint die Größe der Verdauungskraft der Lösung, die als Maßstab für die Wiederherstellung der Fermentwirkung dient. Merkwürdig ist die Wechselbeziehung zwischen diesen beiden Kennzeichen des chemischen Prozesses. Eine Lösung, die eine ziemlich starke proteolytische Kraft zeigt, ist durchsichtig; dagegen enthält eine Lösung mit einer sehr unbedeutenden Verdauungskraft einen großen Niederschlag. Hieraus ergab sich natürlich die Vermutung, daß der in diesem Falle gebildete Niederschlag das Ferment enthält.

Von diesem Gedanken ausgehend, prüften wir auf zwei Arten die milchkoagulierende Wirkung eines solchen Saftes, der, wie oben gesagt wurde, einen Niederschlag enthielt und die allergeringste proteolytische Wirkung zeigte. Ein solcher Saft koaguliert die Milch ziemlich schnell; man könnte denken, wie schon erwähnt wurde, daß als Ursache hiervon unter anderem die Reaktion des Milchmediums erscheint, die günstige Bedingungen für die Fermententwicklung schafft und im gegebenen Falle für dessen milchkoagulierende Funktion. Nachdem man also dem Niederschlag Zeit gegeben hatte, sich auf dem Boden des Probierröhrchens zu präzipitieren, damit die Lösung vollkommen durchsichtig wurde, prüften wir die milchkoagulierende Wirkung des durchsichtigen Teiles der Lösung. Eine andere Probe auf Milchkoagulation führten wir mit derselben Lösung aus, indem wir uns bestrebten, auch den Niederschlag der Probe mit zu unterziehen, weswegen das Probierröhrchen mit der Lösung geschüttelt wurde. Im zweiten Falle trat die Milchkoagulation schneller ein als im ersten, und die einzige Ursache dieser Beschleunigung konnte man darin sehen, daß der Niederschlag das Ferment in einer konzentrierteren Form enthielt, als die Lösung selbst hatte.

Da aber die Beschleunigung der Milchgerinnung in Abhängigkeit vom genommenen Niederschlag der Lösung nicht sehr scharf ausgesprochen war, so wurde beschlossen, von einer anderen Seite an diese Frage heranzutreten. Es wurde folgender Versuch angestellt. Man alkalisierte 15,0 ccm neutralen Saftes durch Hinzufügung von 3,75 ccm NaOH-Lösung, die 0,1% HCl äquivalent war; nach 12 Minuten wurde der

Saft auf einmal angesäuert bis zu einer Acidität von 0,2% HCl, wobei der ursprüngliche Saft 5 mal verdünnt wurde. Der Saft begann trübe zu werden und in ihm fing bald die Formation eines Niederschlags an. Ein Teil des Saftes wurde zur Prüfung der Verdauungskraft genommen, die sich an den Eiweißstäbchen als gleich 0 erwies. Der übrige Saft wurde einer Zentrifugation unterworfen, nachher wurde die durchsichtige Flüssigkeit abgegossen. Hierauf versuchten wir den am Boden verbliebenen Rückstand im Wasser aufzulösen, was jedoch in keiner Weise möglich war. Die Reaktion war eine schwach saure. Wenn man jedoch eine ganz geringe Menge Soda hinzufügte, so löste sich der Niederschlag sofort auf und die Flüssigkeit wurde durchsichtig. Nachdem man in dieser Flüssigkeit die neutrale Reaktion hergestellt hatte, wurden Portionen davon genommen und angesäuert, wobei die Acidität und die Verdünnung die gleichen waren wie bei jener Flüssigkeit, die nach der Zentrifugation des Saftes abgegossen wurde. Bei der Prüfung auf die Verdauungskraft ergab sich, daß der aufgelöste und dann angesäuerte Niederschlag Ferment enthielt: es gelang, bis zu  $\frac{1}{100}$  des Ferments im Vergleich mit dem Kontrollsaft, d. h. einem Saft, der keiner Alkaliwirkung unterworfen, aber in demselben Grade verdünnt und angesäuert worden war, wiederherzustellen. Bei der Prüfung auf die milchkoagulierende Wirkung ergab sich, daß sowohl die saure durchsichtige Flüssigkeit, die durch Zentrifugation vom Niederschlag getrennt wurde, als auch der aufgelöste und angesäuerte Niederschlag die Milch ungefähr 15—20 mal langsamer koagulierten als der Kontrollsaft.

Auf diese Weise ergibt sich aus diesem Versuche ohne Zweifel, daß der Niederschlag, der sich im alkalischen Saft nach einer groben Bearbeitung mit Säure gebildet hat, Ferment enthält. Wir wollen jedoch damit nicht sagen, daß der Niederschlag Ferment ist: für eine solche Behauptung besitzen wir keinerlei Anhaltspunkte. Noch weniger kann man behaupten, daß der sich in diesem Falle ausfällende Niederschlag das ganze Ferment in sich einschließt. Dem würden die Ergebnisse des angeführten Versuches widersprechen: bei der Probe auf Milch-

gerinnung ergab sich, daß nur ein Teil des Ferments in den Niederschlag gefallen war, ein Teil desselben war jedoch in der Lösung geblieben. Ähnlich wie die verschiedenen Bearbeitungsverfahren des alkalischen Saftes zwecks Wiederherstellung des Ferments sogar im günstigsten Falle nur zur Wiederherstellung eines gewissen Teiles des im Saft vorhandenen Ferments führen, wird auch im gegebenen Falle bei einer groben Bearbeitung des alkalischen Saftes mit Säure nicht das ganze Ferment, sondern nur ein Teil desselben in den Niederschlag präzipitiert. Welcher Teil des Ferments und unter welchen Bedingungen dieser präzipitiert wird, können wir auf Grund unserer Versuche nicht mit Genauigkeit sagen.

Aus allen Versuchen mit Alkali ergibt sich ohne Zweifel, daß die Alkalisierung des sauren, in normalen Bedingungen befindlichen Magensaftes eine Verdeckung von dessen Verdauungskraft, einen Übergang des Ferments aus dem tätigen in den untätigen, latenten Zustand nach sich zieht, daß man hierauf an diesem alkalischen Saft die Alkaleszenz wieder durch Säure beseitigen kann, jedoch nicht immer zum Nutzen des Ferments. Die Aufhebung der Alkaleszenz muß durch zwei Handgriffe bewerkstelligt werden, indem man die Ansäuerung erst durch die Zwischenphase einer partiellen oder vollkommenen Neutralisation hindurchführt. Die Säure erscheint für das Ferment als ein chemisches Agens: sie bringt das Ferment zum Vorschein und fixiert das entwickelte Ferment. Es kann jedoch die Vermutung entstehen: wenn man auch der Säure ihre fixierende Rolle dem entwickelten Ferment gegenüber zugestehen muß, ist dann eine solche Anteilnahme der Säure an der ersten Phase der Alkaleszenzaufhebung, die bei der Herabsetzung der Alkaleszenz des Saftes beginnt und in den Grenzen des Zwischenstadiums eingeschlossen ist, unumgänglich? Ist eine chemische Aufhebung der Alkaleszenz in diesem Falle unvermeidlich, oder werden sich die Resultate nicht verändern, wenn die Herabsetzung der Alkaleszenz des Saftes durch einfache Verdünnung mit Wasser erreicht wird?

Die Antwort auf diese Frage gibt folgender Versuch. In zwei Probierröhrchen, deren jedes 2,0 ccm neutralisierten Magen-

saft enthielt, wurden je 0,5 ccm NaOH-Lösung, die 0,1% HCl äquivalent war, hinzugegossen. Nachdem man diese beiden Lösungen je 20 Minuten im alkalischen Zustande gelassen hatte, beseitigten wir in dem einen Probierröhrchen die Hälfte der Alkaleszenz durch Hinzufügung von 0,25 ccm 0,1%iger HCl, wodurch wir als gesamt Lösungsmenge 2,75 ccm erhielten. Der alkalische Saft, der im zweiten Probierröhrchen enthalten war, wurde durch Hinzufügung von 3,0 ccm Wasser verdünnt, wodurch wir als gesamt Lösungsmenge 5,5 ccm erhielten, d. h. also doppelt soviel wie im ersten Probierröhrchen. Auf solche Weise war die Spannung der Alkaleszenz in beiden Lösungen ausgeglichen; in der ersten war die Alkaleszenz auf chemischem Wege herabgesetzt worden, in der zweiten durch Verdünnung mit Wasser. 1 Stunde 15 Minuten nach dieser Prozedur wurden diese Lösungen gleichmäßig verdünnt und angesäuert. Sie sind in folgender Tabelle als Nr. 1 und 2 dargestellt. Nr. 3 ist der Kontrollsaft, der keiner Alkaliwirkung unterworfen, aber in gleichem Maße wie die vorhergehenden Lösungen verdünnt und angesäuert worden war.

Tabelle X.

Nr.	Menge des neutralisierten Magensaftes in ccm	Menge der hinzugefügten Lösung NaOH, die äquivalent 0,1% HCl ist	Zur Ausgleichung der Alkaleszenz wurde hinzugefügt	Verdauungskraft in mm des Eiweißstäbchens nach 16 Stund. 30 Min. (Mett)
1	2,0	0,5	0,25 0,1% HCl	1,65
2	2,0	0,5	3,0 Wasser	0,0
3	Kontrollsaft		—	6,0

Dieser Versuch beantwortet also jene Frage in dem Sinne, daß für die Entwicklung des Ferments nur die chemische Aufhebung der Alkaleszenz von Bedeutung ist; ihr Ersatz durch einfache Verdünnung mit Wasser ergibt kein positives Resultat.

Es ist zweifellos, daß sowohl bei der Alkalisierung des Magensaftes, als auch bei der darauf folgenden Aufhebung der Alkaleszenz ein gewisser chemischer Prozeß vor sich geht. Man kann vermuten, daß wir bei der Neutralisation des Magen-

saites nur die freie Säure binden; wenn man jedoch durch die neutrale Reaktion hindurchgeht, so dringen wir schon mit dem Alkali in die Verbindungen der Säure mit den Eiweißstoffen, mit dem Ferment ein, zerreißen diese Verbindungen und versetzen das Ferment in ein ihm fremdes Medium. Um diese auf so leichte Art zerrissenen Verbindungen wiederherzustellen, muß man auch den chemischen Weg, aber in umgekehrter Richtung betreten. Auf diesem Weg erheben sich aber viele Hindernisse und alles ad integrum zu wenden, ist uns nicht gelungen. Ob jene  $\frac{3}{4}$  des Ferments, deren Wiederherstellung uns in den meisten Fällen nicht gelang, zugrunde gingen, oder ob dieser größere Teil des Ferments in eine fest zymogene Form überging, aus der unsere Maßregeln ihn nicht wieder in den tätigen Zustand zurückversetzen konnten, ist schwer zu sagen.

Zum Schluß möchte ich noch einige Worte über die milchkoagulierende Wirkung unserer, einer Alkaliwirkung unterworfenen Magensaftlösungen sagen. Die milchkoagulierende Wirkung ging überall mit der proteolytischen Funktion parallel und bei einem gewissen Grade der Wiederherstellung des Ferments wurde auch die volle Proportionalität zwischen seinen beiden Funktionen hergestellt. Nur in jenen Fällen, wenn der alkalische Saft ohne irgend eine vorhergegangene chemische Bearbeitung auf einmal angesäuert wurde, trat gewissermaßen die Tatsache eines Auseinandergehens beider Wirkungen ein: der Saft zeigte die milchkoagulierende Wirkung, während die proteolytische verschwunden war. Dieses nur scheinbare Auseinandergehen hängt jedoch davon ab, daß diese beiden Reaktionen in verschiedenen Medien vor sich gehen, bei einer verschiedenen Einrichtung des Versuchs. Wenn man jedoch einen solchen alkalischen Saft, nachdem er mit Säure bearbeitet worden ist, durch die Zwischenphase hindurchführt, so zeigt sich in ihm auch die proteolytische Wirkung. In solchen Fällen hat das Auseinandergehen der Fermentwirkungen seinen Grund in der größeren Empfindlichkeit der milchkoagulierenden Wirkung des Ferments. Die Empfindlichkeit aber dieser Funktion des Ferments hängt von dem Milchmedium ab, das die Wieder-

herstellung des Ferments befördert. Sobald wir diesen Nebeneinfluß des Milchmediums ausschließen, indem wir ihn durch eine Entwicklung des Ferments mit Hilfe unserer Handgriffe ersetzen, so verschwindet auch das vorher vorhandene Auseinandergehen der Funktionen des Ferments. Es kommen jedoch Fälle vor, daß der alkalisierte Saft auch keine milchkoagulierende Wirkung zeigt. Fügt man zu dem Saft viel Alkali hinzu, und besonders ätzende Alkali, z. B. NaOH, so verschwinden in dem Saft beide Funktionen des Ferments und es gelingt nicht, sie wiederherzustellen. In diesen Fällen wird die Prüfung des Saftes auf die milchkoagulierende Wirkung sofort zeigen, ob wir durch unsere Handgriffe zur Wiederherstellung des Ferments positive Resultate erreichen werden oder nicht. Auf solche Weise kann man nur in jenen Fällen, wenn der alkalische Saft die Milch nicht koaguliert, auch keine proteolytische Wirkung in dem Saft entdecken. In allen Fällen aber, wenn durch den Saft Milchgerinnung eintritt, kann man in dem Saft eine proteolytische Wirkung nicht nur entdecken, sondern auch die Proportionalität der beiden Funktionen des Ferments nachweisen.

Auf Grund alles oben Ausgeführten erlauben wir uns, folgende Schlüsse zu ziehen:

1. Die Alkalisierung des Magensaftes wirkt auf dessen Eiweißferment zerstörend ein, was sowohl an der milchkoagulierenden, als auch an der proteolytischen Wirkung zum Ausdruck kommt.

2. Um im alkalisierten Saft die Fermentwirkung nach Möglichkeit wiederherzustellen, muß man  $\frac{4}{5}$  der Alkaleszenz des Saftes beseitigen, und nachdem man ihn 4—6 Stunden bei Zimmertemperatur im Zwischenstadium erhalten hat, das entwickelte Ferment durch Ansäuerung fixieren.

3. Die vollkommene Neutralisation des Alkalis ergibt beziehentlich der Wiederherstellung des Ferments schlechtere Resultate, als eine partielle Neutralisation im Umfange von  $\frac{6}{10}$ — $\frac{9}{10}$  der Alkaleszenz.

4. Die Ansäuerung des alkalischen Saftes auf einmal, ohne ihn durch das Zwischenstadium hindurchgeführt zu haben, führt

bei genügender Alkaleszenz des Saftes und einer gewissen Dauer der alkalischen Periode zum Verschwinden der proteolytischen Wirkung des Ferments, wobei die milchkoagulierende Wirkung, wengleich im quantitativen Sinne geschwächt, erhalten bleibt.

5. Der Umfang der zerstörenden Wirkung des Alkalis auf das Ferment läßt sich am leichtesten kontrollieren durch die Kraft der milchkoagulierenden Wirkung, als einer Reaktion, die schnell und ohne Schwierigkeit eine Antwort gibt.

6. In allen Fällen, wo die Probe auf Milchkoagulation ein positives Resultat ergibt, kann man unter Anwendung von Handgriffen zur Wiederherstellung des Ferments, die vollkommene Proportionalität zwischen den beiden Funktionen des Ferments nachweisen.

