

# Vergleichende Untersuchungen über Pepsin- und Chymosinwirkung bei Hund und Kalb.

Von  
Olof Hammarsten.

(Der Redaktion zugegangen am 3. August 1910.)

In einem vorigen Aufsätze<sup>1)</sup> habe ich vergleichende Untersuchungen über Pepsin- und Chymosinwirkung der Mageninfusionen von Kalb einerseits und von Pferd, Huhn und Hecht andererseits mitgeteilt. Aus diesen Untersuchungen wurde der Schluß gezogen, daß in den Kalbsmageninfusionen entweder ein anderes Enzym vorkommt oder andere, noch unbekanntere Verhältnisse als in den anderen Infusionen obwalten. Ich konnte deshalb auch, wenigstens bis auf weiteres, nur das Kalbschymosin als das typische Chymosin betrachten. Über die Enzyme des Hundemagens hatte ich keine besondere Untersuchungen ausgeführt; aus gewissen, in derselben Arbeit angeführten Gründen konnte ich aber als sehr wahrscheinlich behaupten, daß auch beim Hunde die Verhältnisse anders als beim Kalbe liegen müssen. Diese Vermutung gewann noch weiter an Wahrscheinlichkeit durch eine Arbeit von Migay und Sawitsch,<sup>2)</sup> in welcher sie unter gewissen Versuchsbedingungen eine Parallelität zwischen Pepsin- und Chymosinwirkung bei Menschen und Hunden herstellen konnten. Bang<sup>3)</sup> hat nämlich schon längst gezeigt, daß Menschen- und Kalbschymosin verschieden sich verhalten; und wenn die Enzymwirkungen bei Hund und Mensch übereinstimmen, liegt also hierin ein neuer Wahrscheinlichkeitsbeweis für die Nichtidentität der Magenenzyme bei Hund und Kalb.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LVI.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LXIII.

<sup>3)</sup> Pflügers Archiv, Bd. LXXIX.

Ich fand es also der Mühe wert, vergleichende Untersuchungen über Pepsinverdauung und Milch-, bzw. Caseingerinnung bei Hund und Kalb zu unternehmen, und in diesem Aufsätze werde ich hauptsächlich über die Versuche mit Milch berichten.

Da ich keinen Kalbsmagensaft erhalten kann und also ausschließlich auf Kalbsmageninfusionen hingewiesen war, mußte ich des Vergleiches halber auch mit Infusionen auf Hundemägen arbeiten. Die Infusionen wurden in der von mir in dem vorigen Aufsätze angegebenen Weise dargestellt, und zwar mit Salzsäure von 0.2% HCl. Der Säuregrad wurde in jeder Infusion durch Titration mit  $n_{10}$ -Natronlauge und Lackmus als Indikator bestimmt und, da er regelmäßig etwas niedriger als 0.2% HCl war, durch Säurezusatz genau auf diesen Wert gebracht. Der Gehalt an festen Stoffen wurde nach der Neutralisation der Säure durch Eintrocknen bestimmt. Die unten mitgeteilten Zahlen geben also den Gehalt an festen Stoffen nach Abzug des bei der Neutralisation gebildeten Kochsalzes an.

Da es für das Chymosin charakteristisch ist, daß es auch bei neutraler oder sogar sehr schwach alkalischer Reaktion wirkt, sollte der Vergleich zwischen den zwei Arten von Infusionen bezüglich der Chymosinwirkung eigentlich nur bei neutraler Reaktion geschehen. Dies ist aber kaum möglich, weil man, wie angegeben wird, eine Hundeeinfusion oder Hundemagensaft nicht neutralisieren kann, ohne die labende Wirkung so stark abzuschwächen, daß sie bei stärkerer Verdünnung kaum zum Vorschein kommt. Migay und Sawitsch glaubten zwar in ihren Versuchen mit neutralisierten Infusionen diese Unannehmlichkeit dadurch umgehen zu können, daß sie die Milch mit  $\text{CaCl}_2$ -Lösung versetzten, wodurch man bekanntlich die Milchgerinnung sehr beschleunigen kann. Sie haben aber hierbei übersehen, worauf ich weiter unten zurückkomme, daß man durch Zusatz von  $\text{CaCl}_2$  die Reaktion der Milch verändert und die Anzahl der H-Ionen vermehrt, und auch diese Versuchsanordnung war also ausgeschlossen.

Ich entschloß mich deshalb dazu, von Versuchen mit neutralisierten Infusionen gänzlich abzustehen und ausschließ-

lich mit sauren Infusionen zu arbeiten. Der einzige Eingriff, den ich mir erlaubte, besteht also darin, daß ich die Infusionen mit destilliertem Wasser oder mit Salzsäure von 0,2% HCl verdünnt habe. Alle Hypothesen von durch die Neutralisation bedingter Schädigung oder Lähmung der Enzyme, Entstehung von hemmenden Substanzen usw., die man gegen die Beweiskraft früherer Versuche ins Feld geführt hat, fallen also bei dieser Versuchsanordnung weg. Zur Entscheidung der Frage, ob die Milchgerinnung eine besondere Chymosin- oder nur eine Pepsinwirkung ist, kann eine solche Versuchsanordnung allerdings nicht gut geeignet sein; sie kann aber andere, sehr lehrreiche Resultate geben. Die erstgenannte Frage dürfte wohl auch kaum durch Versuche mit Milch allein gelöst werden können. Zu ihrer Lösung sind nach meiner Ansicht besonders Versuche mit reinen Caseinlösungen nötig, und aus dem Grunde habe ich auch das Hauptgewicht auf Versuche mit solchen Lösungen gelegt. Über solche Versuche werde ich in späteren Aufsätzen ausführlicher berichten. In diesem Aufsätze will ich nur einige wenige Versuche mit reinen Caseinlösungen mitteilen und ich will hauptsächlich das ungleiche Verhalten von Hunde- und Kalbsmageninfusionen zu der peptischen Eiweißverdauung einerseits und der Milchgerinnung anderseits zeigen. Die hierüber angestellten Versuche sind teils nur orientierende und teils gelten sie die Wirkung verschiedener Säuremengen oder des Zusatzes von  $\text{CaCl}_2$ . Ich teile hier erst einige orientierende Versuche mit.

### I. Versuche mit Milch.

#### a) Orientierende Versuche mit Hunde- und Kalbsmageninfusionen.

**Versuch 1.** Die beiden Infusionen, welche, wie immer, erst einige Stunden bei Körpertemperatur gestanden hatten, um etwa vorhandenes Zymogen in Enzym überzuführen, wurden genau auf 0,2% HCl gebracht. Die Kalbsmageninfusion enthielt 0,755% feste Stoffe. Die Hundemageninfusion, welche 0,812%

feste Stoffe enthielt, wurde mit so viel Salzsäure von 0,2% HCl verdünnt, daß ihr Gehalt an festen Stoffen ebenfalls 0,755% war. Zur Feststellung des relativen Pepsingehaltes wurden die beiden Infusionen teils direkt teils nach weiterer Verdünnung mit Salzsäure von 0,2% HCl in dem Verhältnisse 2 : 2 und 1 : 3 nach Mett verglichen. Die relativen Pepsinmengen verhielten sich als Mittel aus diesen Bestimmungen bei Hund und Kalb wie 16 : 9 und die Hundemageninfusion enthielt also gegen doppelt so viel Pepsin wie die Kalbsmageninfusion. Die beiden Infusionen wurden nun mit Wasser zu  $\frac{1}{10}$ ,  $\frac{1}{20}$ ,  $\frac{1}{40}$ ,  $\frac{1}{80}$  verdünnt. Von jeder Verdünnung wurde 1 ccm zu je 10 ccm vorerwärmter Milch gesetzt. Die Temperatur war 37° C. Die Resultate waren folgende:

Hund		Kalb	
Verdünnungsgrad	Gerinnungszeit	Verdünnungsgrad	Gerinnungszeit
$\frac{1}{10}$	Keine Gerinnung in 7 Stunden	$\frac{1}{10}$	1 Min.
$\frac{1}{20}$		$\frac{1}{20}$	1 » 45 Sek.
$\frac{1}{40}$		$\frac{1}{40}$	3 » 30 »
$\frac{1}{80}$		$\frac{1}{80}$	6 » 30 » unget.

Da in keiner der Proben mit Hundemageninfusion Gerinnung nach 7 Stunden stattgefunden hatte, wurde jede Probe mit 1 ccm Kalbsinfusion  $\frac{1}{10}$  versetzt. Die Gerinnung trat nun in allen Proben in weniger als 1 Minute ein. Trotzdem die Hundefusion fast doppelt so reich an Pepsin wie die Kalbsinfusion war, zeigte sich also die erstere als unwirksam gegen Milch in einer Verdünnung, in welcher die letztere die Milch in etwa 1 Minute koagulierte. Diese Hundefusion, welche zu vielen anderen Versuchen verwendet wurde, war jedoch in weniger starker Verdünnung wirksam auf Milch.

Versuch 2. Die Hundemageninfusion enthielt 0,817% und die Kalbsinfusion 0,690% feste Stoffe. Der Säuregrad war in beiden 0,2% HCl. Die Verdauung nach Mett ergab für den Pepsingehalt das Verhältnis Hund: Kalb = 22 : 16. Verdünnung mit Wasser wie unten angegeben. Temperatur 35—36°. Auf je 10 ccm Milch kam 1 ccm Infusion. Die Resultate waren folgende:



Hund		Kalb	
Verdünnungsgrad	Gerinnungszeit	Verdünnungsgrad	Gerinnungszeit
1 <sup>1)</sup>	1 Min. 15 Sek.	$\frac{1}{16}$	2 Min. 10 Sek.
$\frac{1}{2}$	7 »	$\frac{1}{32}$	4 » 20 »
$\frac{1}{4}$	2 Std. 10 Min.	$\frac{1}{64}$	8 » 30 »
$\frac{1}{8}$	8 »	$\frac{1}{128}$	17 »
$\frac{1}{16}$	9 » (sauer)	$\frac{1}{256}$	33 »

Wie man ersieht, besteht gar keine Proportionalität zwischen Pepsin- und Labwirkung der beiden Infusionen. Die Hundefusion wirkt äußerst schwach milchkoagulierend, wenn man von der unverdünnten und der mit Wasser auf  $\frac{1}{2}$  verdünnten Probe absieht. In der ersteren war aber der Säuregrad der Infusion 0,2% HCl, in der letzteren 0,1%. Diese zwei Proben sind also in keiner Weise mit denjenigen der Kalbsinfusionen vergleichbar, weil diese so stark mit Wasser verdünnt waren, daß die Säurewirkung wohl nicht in Betracht kommt. Die ungemein kräftigere Wirkung der Kalbsmageninfusionen wird also hierdurch a fortiori bewiesen. Ein anderes Verhalten, welches in die Augen springt, ist die Abweichung der Labwirkung in den Hundefusionen von dem Zeitgesetze, während die Wirkung der Kalbsinfusionen diesem Gesetze gut folgt. Hier kommt aber wiederum die Säurewirkung in der unverdünnten und schwach verdünnten Hundefusion in Betracht, und des Vergleiches halber war es deshalb von Interesse, die Versuche in der Weise auszuführen, daß der Säuregrad der Infusionen in allen Proben derselbe war. Zu dem Ende war es nur nötig, die Infusionen statt mit Wasser mit Säure von 0,2% HCl zu verdünnen. Nach diesem Prinzipie wurden die zwei folgenden Versuche ausgeführt.

Versuch 3. Dieselben 2 Infusionen wie im Versuche 1. Verdünnung mit Salzsäure von 0,2%. Auf je 10 ccm Milch kamen nur 0,5 ccm Infusion. Der Verdünnungsgrad 1 der Hundefusion bedeutet, wie immer, die unverdünnte Infusion. Infolge der kräftig labenden Wirkung der Kalbsmageninfusion mußte dieselbe schon von Anfang an nur in ziemlich starker Verdünnung angewendet werden. Temperatur 36—35°.

<sup>1)</sup> Bedeutet die unverdünnte Infusion.

Hund		Kalb	
Verdünnungsgrad	Gerinnungszeit	Verdünnungsgrad	Gerinnungszeit
1	2 Min. 45 Sek.	$\frac{1}{20}$	2 Min.
$\frac{1}{2}$	11 >	$\frac{1}{50}$	5 >
$\frac{1}{4}$	2 Std. 20 Min.	$\frac{1}{100}$	9 > 30 Sek.
$\frac{1}{8}$	7 > 26 >	$\frac{1}{200}$	19 >
$\frac{1}{16}$	8 > (sauer)	$\frac{1}{400}$	37 >
		$\frac{1}{500}$	1 Std. 45 Min.

Da der Säuregrad hier überall derselbe war, sind die Glieder der zwei Versuchsreihen miteinander genau vergleichbar, und man sieht wiederum den vollständigen Mangel an Parallelität zwischen Pepsin- und Chymosinwirkung. Die Pepsinwirkung war kräftiger in der Hundeinfusion, die Chymosinwirkung umgekehrt außerordentlich viel kräftiger in der Kalbsinfusion. Das verschiedene Verhalten gegenüber dem Zeitgesetze kommt auch in diesem Versuche zum Vorschein.

Versuch 4. Dieselben Infusionen wie im Versuche 2. Verdünnung mit 0,2% HCl. Auf je 10 ccm Milch 0,5 ccm Infusion. Temperatur 37—36°.

Hund		Kalb	
Verdünnungsgrad	Gerinnungszeit	Verdünnungsgrad	Gerinnungszeit
1	8 Min.	$\frac{1}{32}$	30 Sek.
$\frac{1}{2}$	21 >	$\frac{1}{64}$	1 Min.
$\frac{1}{4}$	2 Std. 9 Min.	$\frac{1}{128}$	2 >
$\frac{1}{8}$	3 > 55 >	$\frac{1}{256}$	3 > 30 Sek.
$\frac{1}{16}$	6 >	$\frac{1}{512}$	7 > 15—20 >

Der Versuch zeigt wesentlich dasselbe wie der vorige. Der Pepsingehalt war Hund : Kalb = 22 : 16; die Chymosinwirkung war aber 500mal so stark in der Kalbs- wie in der Hundeinfusion, und von einer Parallelität der zwei Enzymwirkungen kann es also keine Rede sein. Da ich in dem folgenden mehrere Beweise für diesen Mangel an Parallelität anführen werde, dürfte es überflüssig sein, weitere Versuche dieser Art anzuführen. Ich will also hier nur als festgestellt hervorheben, daß die zwei Enzymwirkungen, die peptische Eiweißverdauung und die Milchkoagulation, in den Mageninfusionen von Hund und Kalb unter den obigen Versuchsbedingungen ganz verschiedenartig sich verhalten.

Der Grund hierzu kann natürlich der sein, daß die beiden Tierarten nicht identische Magenenzyme enthalten; es wäre aber auch möglich, daß die Hundemageninfusionen hemmende Stoffe enthielten, welche in den Kalbsmageninfusionen fehlen. In dem letzteren Falle ist es aber schwer zu verstehen, warum diese hemmenden Stoffe nur die Chymosinwirkung und nicht auch die Pepsinwirkung in den Hundemageninfusionen verhindern sollten, wenn man nach der unitarischen Ansicht beide Enzymwirkungen nur als eine und dieselbe auffaßt. Da ich genötigt bin, in dem folgenden auf diese Frage zurückzukommen, kann ich sie hier beiseite lassen und ich will nur die Frage nach dem Vorkommen von hemmenden Substanzen hier besprechen.

Da die Hundemageninfusionen zwar schwächer als die Mageninfusionen von Kalb wirken, aber nicht unwirksam sind, kann man nicht gern annehmen, daß die erstgenannten Infusionen einen großen Überschuß an hemmenden Substanzen dem Enzyme gegenüber enthalten, und es war also nicht zu erwarten, daß man durch Zusatz von einer größeren Menge Hundemageninfusion zu der Kalbsinfusion die Wirkung der letzteren verhindern oder wesentlich abschwächen könnte. Dem ist auch so. Wenn ich z. B. von einer Kalbsmageninfusion von dem Säuregrade 0,2% HCl, das eine Mal 1 Volumen mit 9 Volumen Hundemageninfusion von demselben Säuregrade und das andere Mal 1 Volumen mit 9 Volumen Salzsäure von 0,2% vermischte und dann diese zwei Lösungen mit derselben Milch prüfte, so gerann die Milch etwa gleich rasch in beiden Fällen. Tatsächlich gerann sie eher ein wenig früher mit dem Gemische der beiden Infusionen, was wohl daher rührte, daß die schwache Wirkung des Hundeenzymes hier zu der Wirkung des Kalbsenzymes sich hinzu addierte. In dieser Weise konnte ich jedenfalls nicht das Vorkommen von hemmenden Substanzen in der Hundemageninfusion nachweisen.

Da man bekanntlich die Labwirkung der Mageninfusionen sowohl durch Säurezusatz wie durch Zusatz von  $\text{CaCl}_2$  un-  
gemein beschleunigen kann, wäre es denkbar, daß diese Zusätze gerade durch Aufhebung irgend einer hemmenden Wirkung

die Gerinnung beschleunigen. Wenn dies der Fall wäre, könnte man nun ferner denken, daß es vielleicht möglich sein würde, die Parallelität der beiden Wirkungen in den zwei Arten von Infusionen durch solche Zusätze herzustellen. Aus dem Grunde habe ich einige Versuche in dieser Richtung ausgeführt, und ich will erst die Versuche mit verschiedenen Säuremengen mitteilen.

### b) Die Wirkung verschiedener Säuremengen auf die Gerinnung.

In diesen Versuchen wurden die Infusionen in bekannten Verhältnissen mit Salzsäure von 0,2% verdünnt, und der Säuregrad des Milchinfusiongemenges wurde in der Weise geändert, daß ich auf je 10 ccm Milch bzw. 0,5 1 oder 2 ccm saurer Infusion zusetzte. Gleichzeitig mit der Säuremenge schwankte also die Enzymmenge in der Mischung und auch (ein wenig) der Wassergehalt der letzteren. Die Versuche sind also keine reinen Versuche über die Säurewirkung allein unter sonst gleichen Verhältnissen; denn ihre Aufgabe war nur, zu prüfen, ob es möglich war, die Parallelität der zwei Enzymwirkungen durch steigenden Säuregehalt herzustellen. Da die Versuche ohne weiteres verständlich sind, führe ich direkt ein paar solche als Beispiele an.

Versuch 5. Dieselben Infusionen wie in Versuch 1. Verdünnung mit 0,2% HCl. Temperatur 37° C. Verdünnungsgrad 1 bedeutet wie gewöhnlich unverdünnte Infusion. Die Zeiten in den Kolonnen bedeuten selbstverständlich hier wie in den folgenden Versuchen die Gerinnungszeiten.

Hund				Kalb			
Verd.- Grad	0,5 ccm Inf.	1 ccm Inf.	2 ccm Inf.	Verd.- Grad	0,5 ccm Inf.	1 ccm Inf.	2 ccm Inf.
1	2 M. 45 Sk.	1 M. 15 Sk.	30 Sek.	$\frac{1}{50}$	5 Min.	1 M. 30 Sk.	30 Sk.
$\frac{1}{2}$	11 Min.	2 > 45 >	1 Min.	$\frac{1}{100}$	9 M. 30 Sk.	3 > 30 >	1 M.
$\frac{1}{4}$	2 St. 20 M.	9 Min.	1 M. 30 Sk.	$\frac{1}{200}$	19 Min.	7 > 30 >	2 >
$\frac{1}{8}$	7 > 26 >	25 M. 30 S.	3 Min.	$\frac{1}{400}$	37 >	14 Min.	4 >
$\frac{1}{16}$	8 > (sauer)	54 Min.	6 >	$\frac{1}{800}$	1 St. 45 M.	34 >	9 >



Aus dem Versuche ist ersichtlich, daß der Mangel an Parallelität nicht durch steigende Säure- (und Ferment-) Zusätze aufgehoben werden konnte. Bei Vergleich von den Proben mit gleichen Mengen Infusion findet man ferner, daß die Säure viel stärker auf die Hunde- als auf die Kalbsinfusionen wirkt. In den Versuchen mit Kalbsinfusion wird die Gerinnung durch Zusatz von 2 ccm saurer Infusion auf  $\frac{1}{9}$  oder  $\frac{1}{10}$  der bei Zusatz von 0,5 ccm erforderlichen Zeit reduziert. In den Versuchen mit entsprechenden Mengen Hundemageninfusion und dem Enzymgehalte  $\frac{1}{4}$  und  $\frac{1}{8}$  wird die Zeit auf rund  $\frac{1}{140}$  oder  $\frac{1}{148}$  reduziert. Da die Gerinnung mit dem Hundenzym also viel stärker als die mit Kalbsenzym durch dieselbe Säuremenge beschleunigt wird, ist zu erwarten, daß man eine enzymärmere Kalbsinfusion in bezug auf ihre milchkoagulierende Wirkung einer enzymreicheren Hundeeinfusion äquivalent machen können soll. Dies ist in der Tat auch der Fall. So werden, wie man findet, durch Zusatz von 2 ccm saurer Infusion, die Hundeeinfusionen 1,  $\frac{1}{2}$  und  $\frac{1}{4}$  in bezug auf milchkoagulierende Fähigkeit äquivalent den Kalbsinfusionen  $\frac{1}{50}$ ,  $\frac{1}{100}$  und  $\frac{1}{200}$ . Hinsichtlich der Chymosinwirkung kann man also zwei Infusionen gleichwertig machen, von denen die eine mehr als 50mal so viel Pepsin wie die andere enthält. Dagegen gelingt es nicht, in dieser Weise zwei Infusionen von etwa demselben Pepsin-gehalte äquivalent in bezug auf die Labwirkung zu machen, was wohl ohne weiteres verständlich ist. Sobald ich Kalbsinfusionen von  $\frac{1}{16}$ ,  $\frac{1}{8}$  benutzte, fand nämlich die Koagulation in nicht meßbarer Zeit statt.

Da sämtliche von mir nach diesem Plane ausgeführten Versuche im wesentlichen dasselbe Resultat gaben, dürfte es genug sein, nur noch einen Versuch mitzuteilen.

Versuch 6. Kalbsmageninfusion 0,2% HCl und 0,840% feste Stoffe. Hundeeinfusion von demselben Säuregrad mit 0,890% festen Stoffen. Verdauung nach Mett ergab für den Pepsin-gehalt das Verhältnis Hund : Kalb = 25 : 16. Verdünnung mit Salzsäure von 0,2% HCl. Verdünnung 1 = unverdünnter Infusion. Temperatur 36—35° C.

Hund				Kalb			
Verd.- Grad	0,5 cem Infus.	1 cem Infus.	2 cem Infus.	Verd.- Grad	0,5 cem Infus.	1 cem Infus.	2 cem Infus.
1	6 M. 30 Sk.	1 M. 50 Sk.	20 Sek.	$\frac{1}{32}$	1 M. 30 Sk.	30 Sek.	nicht bestimmbar
$\frac{1}{2}$	13 Min.	3 » 30 »	40 »	$\frac{1}{64}$	3 Min.	1 Min.	15 S. ungef.
$\frac{1}{4}$	29 »	7 Min.	1 Min.	$\frac{1}{128}$	6 »	2 »	30 Sek.
$\frac{1}{8}$	1 St. 57 M.	14 M. 30 S.	2 »	$\frac{1}{256}$	12 »	4 »	1 M. 10 Sk.
$\frac{1}{16}$	6 » 30 »	42 Min.	5 »	$\frac{1}{512}$	25 »	9 »	2 » 30 »
				$\frac{1}{1024}$	52 »	20 »	5 » 10 »

Hier sieht man wiederum, wie bei den stärkeren Enzymverdünnungen die Säure die Wirkung des Hundeenzymes un-  
gemein viel stärker als die des Kalbsenzymes beschleunigt,  
und man findet ferner, daß eine Kalbsmageninfusion, deren  
Pepsingehalt weniger als  $\frac{1}{64}$  von dem der Hundeeinfusion be-  
trägt, durch Säurezusatz in bezug auf Milchgerinnung mit der  
Hundeeinfusion äquivalent gemacht werden kann. Die Unmög-  
lichkeit, zwei in bezug auf Pepsinwirkung äquivalente Infusionen  
auch bezüglich der Labwirkung äquivalent zu machen, ist leicht  
verständlich, wenn man aus der Tabelle ersieht, daß schon  
eine Kalbsinfusion von dem Enzymgehalte  $\frac{1}{32}$  die Milch in  
dem Verhältnisse 2 : 10 in nicht bestimmbarer Zeit koagulierte,  
und da es unmöglich war, mit weniger stark verdünnten Kalbs-  
infusionen zu arbeiten. Man ersieht ferner aus diesen zwei  
Versuchen, daß das Zeitgesetz, welches bei niedrigen Enzym-  
und Säuremengen in den Versuchen mit Hundemageninfusionen  
nicht zum Vorschein kommt, bei höheren Säure- und Enzym-  
mengen hier etwa ebenso gut wie in den Versuchen mit Kalbs-  
infusionen sich geltend macht.

Das wesentlichste Resultat dieser Versuche ist aber, daß  
es nicht möglich war, zwei bezüglich des Pepsingehaltes gleich-  
wertige Infusionen auch bezüglich der Labwirkung gleichwertig  
zu machen. Dagegen gelang es, zwei Infusionen, von denen  
die eine mehr, als 50- oder 60mal so viel Pepsin wie die  
andere enthielt, in bezug auf die Labwirkung äquivalent zu  
machen, ein Verhalten, welches nicht zugunsten der Identität  
der zwei Enzymwirkungen spricht.

Daß die Gegenwart von mehr Säure bei niedrigem Enzymgehalt viel kräftiger die Wirkung des milchkoagulierenden Enzymes von Hund als von Kalb befördert, kann natürlich daran liegen, daß beide Enzyme vielleicht nicht identisch sind. Es kann aber auch darauf beruhen, daß die Hundefusionen hemmende Stoffe enthalten, welche in den Kalbsinfusionen fehlen oder nur in so geringer Menge vorkommen, daß ihre Wirkung nicht einmal bei neutraler Reaktion merkbar ist. Zugunsten einer solchen Ansicht spricht vielleicht auch, daß man durch Säurezusätze auch beim Hunde das Zeitgesetz wieder herstellen kann. Da nun aber die Säure auch die Gerinnung durch das Kalbsenzym stark beschleunigt, muß man außer der obigen auch die weitere Annahme machen, daß die Säure außer durch etwaige Aufhebung hemmender Einflüsse auch in anderer Weise beschleunigend auf die Gerinnung wirkt. Genügende Anhaltspunkte zur Klärung der Frage, ob die Hundefusionen hemmende Stoffe enthalten oder nicht, können die nun mitgeteilten Versuche jedenfalls nicht liefern.

#### c) Die Wirkung des Chlorcalciums auf die Gerinnung.

Diese Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß die  $\text{CaCl}_2$ -Lösung (von 10%) nicht den Infusionen, sondern der Milch zugesetzt wurde, so daß der Gehalt der letzteren an  $\text{CaCl}_2$  in den verschiedenen Versuchen 0,05, 0,1, 0,2 und höchstens 0,4% betrug. In diesen Versuchen wurde teils eine Vergleichsprobe ohne  $\text{CaCl}_2$  und teils eine Kontrollprobe mit  $\text{CaCl}_2$  ohne Infusion hergestellt, die letztere Probe aus dem Grunde, daß man mitunter Milch erhalten kann, welche nach Zusatz von größeren  $\text{CaCl}_2$ -Mengen auch ohne Zusatz von Enzymlösung bei Körpertemperatur mehr oder weniger vollständig gerinnt. Auch zu den Versuchen mit  $\text{CaCl}_2$  wurden stets mit Säure verdünnte Infusionen verwendet, und es kamen auf je 10 ccm Milch immer 0,5 ccm Infusion. Da die Versuchsergebnisse ohne weiteres verständlich sind, bemerke ich hier nur, daß die Zeitangaben in den Tabellen natürlich die Gerinnungszeiten bedeuten.

Versuch 7. Dieselben Infusionen wie in Versuch 1. Pepsingehalt nach Mett: Hund : Kalb = 16 : 9.

	Verd.-Grad	0,0% CaCl <sub>2</sub>	0,05% CaCl <sub>2</sub>	0,1% CaCl <sub>2</sub>	0,2% CaCl <sub>2</sub>
Hund	<sup>1</sup> / <sub>4</sub>	2 Std. 10 Min.	7 Min.	2 Min. 30 Sek.	1 Min. 45 Sek.
	<sup>1</sup> / <sub>3</sub>	4 > 30 >	26 Min. 30 Sek.	7 Min.	2 > 30 >
Kalb	<sup>1</sup> / <sub>10</sub>	10 Min.	4 Min. 30 Sek.	3 Min. 15 Sek.	2 Min. 15 Sek.
	<sup>1</sup> / <sub>200</sub>	20 >	13 Min.	6 Min.	3 > 30 >

Man ersieht hier sogleich die enorme Beschleunigung, welche das CaCl<sub>2</sub> bewirkt, und man findet ferner, daß, gerade so wie Bang<sup>1)</sup> für das Parachymosin gefunden hat, das CaCl<sub>2</sub> die Wirkung der Hundemageninfusionen ungemein viel kräftiger als die der Kalbsmageninfusionen beeinflusst. Ein Gehalt von nur 0,05% CaCl<sub>2</sub> kürzt z. B. beim Hunde die Gerinnungszeit von 2 St. 10 Min. auf 7 Min., bzw. von 4 St. 30 Min. auf 26 Min. ab, während beim Kalbe die Gerinnungszeit nur von 10 Min. auf 4 Min. 30 Sek., bzw. von 20 Min. auf 13. Min. abgekürzt wird.

Versuch 8. Die Hundemageninfusion enthielt 0,871% feste Stoffe. Die Kalbsmageninfusion war dieselbe wie in dem Versuche 2, mit 0,690% festen Stoffen. Säuregrad 0,2%. Pepsingehalt, nach Mett bestimmt, Hund : Kalb = 22 : 16.

	Verd.-Grad	0,0% CaCl <sub>2</sub>	0,05% CaCl <sub>2</sub>	0,1% CaCl <sub>2</sub>	0,2% CaCl <sub>2</sub>
Hund	<sup>1</sup> / <sub>2</sub>	14 Min.	5 Min.	2 Min. 30 Sek.	1 Min. 25 Sek.
	<sup>1</sup> / <sub>4</sub>	42 >	11 >	5 Min.	2 > 30 >
	<sup>1</sup> / <sub>3</sub>	120 >	26 >	10 >	5 Min.
	<sup>1</sup> / <sub>10</sub>	keine Gerinn. in 6 Stund.	1 Std. 7 Min.	23 >	10 >
Kalb	<sup>1</sup> / <sub>4</sub>	13 Min.	5 Min.	2 Min. 30 Sek.	2 Min.
	<sup>1</sup> / <sub>125</sub>	25 Min. 30 Sek.	10 >	5 > 45 >	3 >

Daß in diesem Versuche die Gerinnungszeiten in den Versuchen mit Kalbsmageninfusion ohne CaCl<sub>2</sub> nicht dieselben wie in dem Versuche 2 mit derselben Infusion, sondern etwas

<sup>1)</sup> Pflügers Archiv, Bd. LXXIX.



länger sind, liegt wohl kaum daran, daß die Milch nicht in beiden Fällen dieselbe war. Die Ursache ist wohl vielmehr die verschiedene Enzymmenge, indem in diesem Versuche nur 0,5 ccm der mit Säure verdünnten, in dem Versuche 2 dagegen 1 ccm der mit Wasser verdünnten Infusion verwendet wurde. Außer der stark beschleunigenden Wirkung des  $\text{CaCl}_2$  sieht man in diesem Versuche auch, daß bei Gegenwart von 0,05%  $\text{CaCl}_2$  die Infusionen Hund  $\frac{1}{2}$  und Kalb  $\frac{1}{64}$  und bei Gegenwart von 0,1%  $\text{CaCl}_2$  Hund  $\frac{1}{4}$  und Kalb  $\frac{1}{128}$  hinsichtlich der milchkoagulierenden Wirkung ungefähr äquivalent sind. Eine Äquivalenz bei sehr verschiedenem Pepsingehalte findet man auch in dem folgenden Versuche.

Versuch 9. Dieselben Infusionen wie im Versuche 6. Pepsinrelation Hund : Kalb = 25 : 16.

	Verd.-Grad	0,0% $\text{CaCl}_2$	0,1% $\text{CaCl}_2$	0,2% $\text{CaCl}_2$	0,4% $\text{CaCl}_2$
Hund	$\frac{1}{2}$	13 Min.	2 Min. 30 Sek.	1 Min. 20 Sek.	45 Sek.
	$\frac{1}{4}$	29 »	5 Min.	2 » 45 »	1 Min. 30 Sek.
	$\frac{1}{8}$	1 Std. 57 Min.	10 »	6 Min.	3 » 15 »
	$\frac{1}{16}$	6 » 30 »	34 »	14 »	6 » 15 »
Kalb	$\frac{1}{64}$	3 Min.	1 Min. 30 Sek.	45 Sek.	35Sek.(ungef.)
	$\frac{1}{128}$	6 »	3 Min.	1 Min. 30 Sek.	1 Min. 10 Sek.
	$\frac{1}{256}$	12 »	5 Min. 30 Sek.	3 Min.	2 » 40 »
	$\frac{1}{512}$	25 »	11 Min.	6 »	4 » 30 »
	$\frac{1}{1024}$	52 »	23 »	12Min.30Sek.	9 Min.

Die nun angeführten Versuche zeigen also, daß das  $\text{CaCl}_2$  die Wirkung beider Arten von Infusionen beschleunigt, die Wirkung des Hundenzymes aber unverhältnismäßig viel stärker als die des Kalbsenzymes. Es findet hier also ein ähnliches Verhalten wie in den Versuchen mit verschiedenen Säuremengen statt. Auch durch Zusatz von  $\text{CaCl}_2$  kann ferner, wie die Versuche 8 und 9 zeigen, das Zeitgesetz, wenn es bei Abwesenheit von  $\text{CaCl}_2$  nicht zutrifft, zur Geltung kommen. Da das  $\text{CaCl}_2$  ferner viel stärker auf das Hunde- als auf das Kalbsenzym wirkt, muß es unter Umständen eintreffen können, daß man durch  $\text{CaCl}_2$ -Zusatz zwei Infusionen, welche bezüglich des

Pepsingehaltes gar nicht äquivalent sind, in bezug auf die Milchgerinnung äquivalent machen kann. Dies ist auch in den zwei letzten Versuchen der Fall. Bei Gegenwart von 0,1%  $\text{CaCl}_2$  waren nämlich in Versuch 9 die drei Hundeeinfusionen  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{4}$  und  $\frac{1}{8}$  annähernd äquivalent den Kalbsinfusionen  $\frac{1}{128}$ ,  $\frac{1}{256}$  und  $\frac{1}{512}$ , und bei Gegenwart von 0,2%  $\text{CaCl}_2$  waren die Hundeeinfusionen  $\frac{1}{4}$  und  $\frac{1}{8}$  äquivalent den Kalbsinfusionen  $\frac{1}{256}$  und  $\frac{1}{512}$ . Nun war die Hundeeinfusion von Anfang an reicher an Pepsin als die Kalbsinfusion, das Verhältnis war Hund : Kalb etwa wie 1,56 : 1 nach Mett gemessen. Man kann also durch  $\text{CaCl}_2$ -Zusatz zwei Infusionen in bezug auf Chymosinwirkung gleichwertig machen, trotzdem die eine mehr als 64-mal reicher an Pepsin als die andere ist.

Der umgekehrte Versuch, zwei in bezug auf Pepsingehalt äquivalente Hunde- und Kalbsmageninfusionen auch in bezug auf die Chymosinwirkung gleichwertig zu machen, ist mir dagegen nicht gelungen, und zwar aus dem Grunde, daß die Kalbsinfusionen schon ohne  $\text{CaCl}_2$  kräftiger als die Hundeeinfusionen mit  $\text{CaCl}_2$  wirken und dies sogar, wenn sie ärmer an Pepsin als die letzteren sind. So wirkt z. B. in dem Versuche 9 die Kalbsinfusion  $\frac{1}{64}$  ohne  $\text{CaCl}_2$  in 3 Minuten, die Hundeeinfusion  $\frac{1}{16}$  bei Gegenwart von 0,4%  $\text{CaCl}_2$  dagegen in 6 Min. 15 Sek. Ging ich dagegen von zwei in bezug auf Pepsingehalt mehr äquivalenten Infusionen aus, nämlich von der Verdünnung  $\frac{1}{16}$  in beiden, so gerann das Milch-Kalbsinfusionsgemenge bei Gegenwart von 0,4%  $\text{CaCl}_2$  in unmeßbar kurzer Zeit, das Milch-Hundeeinfusionsgemenge dagegen nach 6 Min. 15 Sek.

Bei vergleichenden Versuchen mit den Enzymen von Hund und Kalb war es also nicht möglich, zwei Infusionen von ungefähr demselben Pepsingehalte durch  $\text{CaCl}_2$ -Zusatz gleichwertig in bezug auf die Chymosinwirkung zu machen. Dagegen konnte man durch Zusatz von dem Kalksalze eine solche Gleichwertigkeit der Labwirkung in zwei Infusionen erreichen, von denen die eine reichlich 50 oder 60 mal mehr Pepsin (nach Mett gemessen) als die andere enthielt. Die Hunde- und Kalbsmageninfusionen zeigten also in ihrer labendenden und eiweißver-

dauenden Wirkung untereinander ein wesentlich anderes Verhalten als dasjenige, welches die Magensäfte von Hund und Mensch in den Versuchen von Migay und Sawitsch<sup>1)</sup> zeigten.

Migay und Sawitsch konnten nämlich durch Zusatz von  $\text{CaCl}_2$  die Proportionalität zwischen Pepsin- und Chymosinwirkung in den genannten Magensäften herstellen. Sie sehen hierin einen Beweis zugunsten der Identität des Pepsins und des Chymosins und sie glauben ferner aus ihren Versuchen schließen zu können, daß es möglich ist «nach der einen Wirkung auch die andere zu beurteilen, und dies um so mehr, als die Reaktion der Koagulation sehr einfach und bei Hinzufügung von  $\text{CaCl}_2$  genügend sensibel ist und zu ihrer Vollen- dung nur wenig Zeit erfordert».

Ich will nun allerdings nicht die Möglichkeit in Abrede stellen, daß eine solche Beurteilung der einen Enzymwirkung nach der anderen für Magensäfte derselben Tierart oder solcher Tierarten, welche identische Enzyme enthalten, gestattet sein kann, was indessen noch nicht hinreichend geprüft worden ist. Wenn man aber mehr weitgehende Schlüsse zieht und wenn man glaubt, aus der einen Wirkung die andere im allgemeinen beurteilen zu können, so kann ich gar nicht einer solchen Ansicht beipflichten. Wenn ich z. B. nur aus der Milchgerinnung nach  $\text{CaCl}_2$ -Zusatz den relativen Pepsingehalt einer Kalbs- und einer Hundemageninfusion hätte beurteilen wollen, so hätte ich leicht den Schluß ziehen können, daß zwei Infusionen, von denen die eine tatsächlich 50 oder 60 mal mehr Pepsin als die andere enthielt, ungefähr dieselben Pepsinmengen enthielten. Ich muß also fortwährend wie bei früheren Gelegenheiten davor warnen, die Gerinnungsversuche durch Zusatz von  $\text{CaCl}_2$  zu komplizieren, bevor man die Wirkung dieses Salzes und diese schwierige Enzymfrage überhaupt mehr eingehend studiert hat. Ein solches, mehr eingehendes Studium der  $\text{CaCl}_2$ -Wirkung dürfte um so mehr erwünscht sein, als die Wirkungsweise dieses Salzes nur zum Teil bekannt ist.

In diesem Zusammenhange muß ich hier ein wenig auf die Versuchsanordnung von Migay und Sawitsch eingehen.

<sup>1)</sup> l. c. Diese Zeitschrift, Bd. LXIII.

Als etwas für das echte Chymosin Charakteristisches habe ich wiederholt seine kräftige Wirkung auch bei neutraler Reaktion hervorgehoben. Um nun der Forderung einer neutralen Reaktion bei ihren Arbeiten gerecht zu werden, haben die genannten Verfasser die Magensäfte mit Bicarbonat neutralisiert und dann, um die Reaktion zu beschleunigen, gewöhnlich auf je 10 ccm Milch 0,5—1 ccm einer 10%igen  $\text{CaCl}_2$ -Lösung zugesetzt. In dieser Weise wurde, wie sie sagen, die Gerinnung «in einem neutralen Milieu» ausgeführt. Dies ist nun aber eine unrichtige Annahme, denn  $\text{CaCl}_2$ -Zusatz ändert die Reaktion der Milch: sie wird stärker sauer.

Dies ist wohl eine recht allgemein bekannte Tatsache, deren Richtigkeit leicht zu konstatieren ist. Wenn man ein nicht zu unempfindliches Lackmuspapier benutzt, kann man sich nämlich leicht davon überzeugen, daß die Milch durch Zusatz von weniger als 0,5%  $\text{CaCl}_2$  ihre Reaktion ändert und stärker als früher auf blaues Papier reagiert. In besonders überzeugender Weise hat van Dam<sup>1)</sup> diese Wirkung von  $\text{CaCl}_2$  gezeigt. Er konnte nämlich nachweisen, daß durch Zusatz von 0,2%  $\text{CaCl}_2$  der Gehalt an H-Ionen in der Milch drei- bis viermal größer wird. Durch Zusatz von 0,5—1%  $\text{CaCl}_2$ , wie in den Versuchen von Migay und Sawitsch, vermehrt man also die Anzahl der gerade für die Pepsinwirkung bedeutungsvollen H-Ionen: und da die Wirkung dieses Salzes wenigstens zum Teil eine Säurewirkung ist, können die Versuche von Migay und Sawitsch, in welchen die Parallelität der zwei Enzymwirkungen nach  $\text{CaCl}_2$ -Zusatz erreicht wurde, nicht als Beweise für die Identität des Pepsins und Chymosins herangezogen werden.

Ich komme nun zu der Frage, inwieweit meine oben mitgeteilten Versuche mit der sogenannten unitarischen bzw. dualistischen Auffassung der zwei Enzymwirkungen zu vereinbaren sind.

Zugunsten der Identität der zwei Enzymwirkungen wird als das wichtigste und eigentlich wohl auch als das einzige

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LVIII.



Argument die wiederholt beobachtete Proportionalität zwischen Pepsin- und Chymosinwirkung ins Feld geführt. Nach meiner Ansicht spricht aber diese Proportionalität nicht weniger zugunsten der dualistischen Auffassung, wenn man auf den Standpunkt von Nencki und Sieber<sup>1)</sup> sich stellt.

Wenn man nämlich mit ihnen sich vorstellt, daß es ein großes Fermentmolekül gibt, welches gewissermaßen zwei Seitenketten enthält, von denen die eine die Pepsinwirkung, die andere dagegen die Chymosinwirkung erzeugt, so ist die Proportionalität zwischen den zwei Enzymwirkungen etwas ebenso Selbstverständliches, als wenn man nur eine und dieselbe Enzymwirkung annimmt. Ein an Ferment reicherer Hundemagensaft muß beide Wirkungen in stärkerem Maße entfalten als ein fermentärmerer; verdünnt man mit Wasser, so müssen auch nach der dualistischen Ansicht beide Wirkungen parallel abnehmen. Wird ein Teil der Fermentmoleküle zerstört oder gehemmt, so muß dasselbe geschehen. Ebenso ist es nach der dualistischen Ansicht leicht zu verstehen, daß man, wie wiederholt beobachtet wurde, die eine Wirkung in stärkerem Grade als die andere lähmen, schwächen oder hemmen kann, was nach der unitarischen Ansicht schwerverständlich ist und bisher jedenfalls nicht in befriedigender Weise erklärt wurde. Man hat also nach meiner Ansicht nicht das Hauptgewicht auf die wiederholt beobachtete Parallelität der zwei Enzymwirkungen zu legen; es kommt vor allem darauf an, die vielen bisher unexplärten Fälle, in welchen die Proportionalität nicht vorhanden war, aufzuklären.

Zu diesen Fällen gehört, unter anderen, der Mangel an Parallelität zwischen den Wirkungen der Kalbsmageninfusionen einerseits und denen der Infusionen auf Mägen von Mensch und gewissen Tieren andererseits.

Halten wir uns zunächst an die Kalbs- und Hundemageninfusionen, so will ich hier zuerst eine übersichtliche Darstellung meiner Versuchsergebnisse, insofern als sie den Mangel an Parallelität zeigen, machen, damit die Größe der Unterschiede

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXXII.

deutlicher in die Augen springt. Als Maß des Pepsingehaltes habe ich dabei die nach Mett gefundenen Zahlen genommen. Als ungefähres Maß der Chymosinwirkung nehme ich die Verdünnungsgrade zweier Infusionen, welche, unter den für die Wirkung der Hundefusionen günstigsten Bedingungen, in bezug auf labende Wirkung gleichwertig waren. Wenn ich also z. B. das Optimum für die Labung mit Hundefusionen bei Zusatz von 2 ccm Infusion von 0,2% HCl auf 10 ccm Milch erhielt, und wenn ich unter ganz denselben Bedingungen bei Anwendung einer Kalbsinfusion von 0,2% HCl fand, daß die Verdünnungen (mit 0,2% HCl)  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{8}$  der Hundefusionen den Verdünnungen  $\frac{1}{128}$ ,  $\frac{1}{256}$ ,  $\frac{1}{512}$  der Kalbsinfusionen äquivalent waren, so drücke ich dies so aus, daß ich sage, daß die Chymosinmengen in den zwei Arten von Infusionen ungefähr wie 1 : 64 sich verhielten. Mache ich nun eine solche Zusammenstellung für 4 Versuche, von denen schon zwei in den vorigen mitgeteilt wurden, so finden wir folgendes:

	Pepsin	Chymosin
1. Hund : Kalb =	1 : 0,56	1 : 50
2.    »        » =	1 : 0,64	1 : 64
3.    »        » =	1 : 0,72	1 : 16
4.    »        » =	1 : 0,75	1 : 60.

Die Unterschiede sind, wie man ersieht, so außerordentlich groß, daß man sie nicht ohne weiteres außer acht lassen kann. Nach der dualistischen Ansicht kann man diese Unterschiede durch die Annahme erklären, daß das Fermentmolekül beim Kalbe viel reicher an Chymosinseitenketten als beim Hunde ist. Nach der unitarischen Ansicht ist die Erklärung schwieriger. Man kann allerdings sagen, daß die Magenenzyme nicht bei allen Tierarten identisch sind; aber hiermit ist wenig gewonnen. Selbst wenn es verschiedene Pepsine gibt, muß man nämlich die Parallelität zwischen Eiweißverdauung und Milchgerinnung finden können, wenn diese zwei Prozesse nur eine und dieselbe Enzymwirkung — eine Pepsinverdauung — sind. Da diese Parallelität fehlt, muß man sich also nach anderen Erklärungsmöglichkeiten umsehen.

Als eine solche, welche zur Erklärung der ungleichen

Wirkung verschiedener Tierinfusionen vielleicht in Betracht kommen könnte, hat van Dam die wahrscheinlich schnelle Schädigung dieser Infusionen durch neutrale Milch herangezogen. Er hat nämlich gefunden, daß bei Gegenwart von nur wenig Enzym oder von geschädigtem Enzym die Gerinnung verhältnismäßig viel rascher bei einer niedrigen Temperatur, z. B. 25° C., als bei einer höheren, 37° C., verläuft. Als das schädliche Agens der Milch betrachtet er die Hydroxylionen derselben.

Wenn nun diese letztere Ansicht richtig ist, könnte man a priori annehmen, daß bei der von mir befolgten Versuchsanordnung, wo mit sauren Infusionen in größerer Menge gearbeitet wurde, die Einwirkung der Hydroxylionen wegfallen würde, und daß dementsprechend die ungleiche Temperatur ohne wesentlichen Einfluß sein sollte. Dem ist auch so, wie aus den folgenden zwei Versuchen hervorgeht.

Versuch 10. Verdünnung der beiden Infusionen von Hund und Kalb mit Salzsäure von 0,2% HCl. Überall 2 ccm Infusion von 0,2% HCl zu 10 ccm Milch. Die Zeiten bedeuten selbstverständlich die Gerinnungszeiten.

		Temp. 26° C.	
		Hund	Kalb
Verd.-Grad	$\frac{1}{2}$ = 1 Min. 30 Sek.	Verd.-Grad	$\frac{1}{32}$ = 1 Min.
»	$\frac{1}{4}$ = 3 »	»	$\frac{1}{64}$ = 2 »
»	$\frac{1}{8}$ = 6 »	»	$\frac{1}{128}$ = 3 » 30 Sek.
»	$\frac{1}{16}$ = 13 »	»	$\frac{1}{256}$ = 7 »
		Temp. 37° C.	
		Hund	Kalb
Verd.-Grad	$\frac{1}{2}$ = 30 Sek.	Verd.-Grad	$\frac{1}{32}$ = 20 à 25 Sek.
»	$\frac{1}{4}$ = 1 Min.	»	$\frac{1}{64}$ = 50 Sek.
»	$\frac{1}{8}$ = 2 »	»	$\frac{1}{128}$ = 1 Min. 40 Sek.
»	$\frac{1}{16}$ = 4 » 15 Sek.	»	$\frac{1}{256}$ = 3 » 20 «

Wie man ersieht, übt die niedrige Temperatur unter diesen Versuchsbedingungen keinen günstigen Einfluß aus, und der Mangel an Parallelität (die Pepsinmenge verhielt sich bei Hund und Kalb = 16 : 9) tritt ebenso gut bei der niedrigeren wie bei der höheren Temperatur hervor. Dasselbe findet man auch in dem folgenden, nach demselben Prinzip angeordneten Versuche.

Versuch 11. Säuregrad der Infusionen 0,2% HCl. Auf je 10 ccm Milch kamen immer 2 ccm Infusion von 0,2% HCl.

Pepsingehalt war: Hund : Kalb = 30,25 : 25, also ziemlich nahe derselbe in beiden

Temp. 24,5° C.

Hund		Kalb	
Verd.-Grad $\frac{1}{2}$	= 2 Min. 30 Sek.	Verd.-Grad $\frac{1}{64}$	= 45—50 Sek.
> $\frac{1}{4}$	= 5 >	> $\frac{1}{128}$	= 1 Min. 45 Sek.
> $\frac{1}{8}$	= 10 >	> $\frac{1}{256}$	= 3 > 30 >
> $\frac{1}{16}$	= 21 >	> $\frac{1}{512}$	= 7 >

Temp. 39° C.

Hund		Kalb	
Verd.-Grad $\frac{1}{2}$	= 40 Sek.	Verd.-Grad $\frac{1}{64}$	= 20—30 Sek.
> $\frac{1}{4}$	= 1 Min. 25 Sek.	> $\frac{1}{128}$	= 1 Min.
> $\frac{1}{8}$	= 2 > 40 >	> $\frac{1}{256}$	= 2 >
> $\frac{1}{16}$	= 5 > 30 >	> $\frac{1}{512}$	= 4 >

Da die beiden Versuche übereinstimmend keine begünstigende Wirkung der niedrigen Temperatur, sondern eher das Gegenteil zeigen, und da die von van Dam angenommene Wirkung der Milchhydroxytionen bei der obigen Versuchsanordnung wohl nicht in Betracht kommt, habe ich es nicht nötig erachtet, weitere Versuche dieser Art auszuführen.

Es war also nicht möglich, den Mangel an Parallelität zwischen Pepsin- und Chymosinwirkung durch Änderung der Temperatur aufzuheben, und man muß also versuchen, diesen Mangel in anderer Weise zu erklären. Wenn man sich erinnert, daß der einzige Eingriff, welcher bei meiner Versuchsanordnung vorkommt, eine Verdünnung mit Salzsäure von 0,2% HCl war, so dürfte wohl die sonst übliche Annahme von einer Lähmung, Schwächung oder Hemmung der einen Enzymwirkung infolge verschiedener, durch die Versuchsanordnung bedingten Eingriffe ausgeschlossen sein. So weit ich ersehen kann, hat man nur an Verunreinigungen oder hemmende Stoffe, die von vornherein, sei es in der Milch oder in den Infusionen, vorhanden waren, zu denken.

Bezüglich der Milch wäre es denkbar, daß ihre langsamere Gerinnung mit Infusionen von anderen Tieren, den Kalbsmageninfusionen gegenüber, nicht von den Infusionen, wenigstens nicht von ihnen allein, sondern von der Milch herührte. Das Kalbsenzym ist von Anfang an auf die Kuhmilch



eingestellt, während dies nicht mit dem Hundeenzym der Fall ist. Die Kuhmilch könnte nun vielleicht Stoffe enthalten, welche auf das Hundeenzym, nicht aber auf das mit dem letzteren nicht identische Kalbsenzym hemmend einwirkten, in welchem Falle der Mangel an Proportionalität zwischen Pepsin- und Chymosinwirkung leicht verständlich sein würde. Es wäre also denkbar, daß man ganz andere Resultate erhielte, wenn man die Hundeeinfusion auf Hundemilch statt auf Kuhmilch einwirken ließ. Diese Frage wie auch die, ob überhaupt die Infusionen verschiedener Tiermägen anders auf die arteigene als auf die artfremde Milch wirken, habe ich jedoch nicht prüfen können.

Dagegen habe ich in anderer Weise Aufklärung über diese Frage zu gewinnen versucht, indem ich nämlich statt Versuche mit Milch solche mit reinen Caseinlösungen ausgeführt habe. Die Milch mit ihren reichlichen Mengen von Kalksalzen, Phosphaten und anderen Stoffen ist nach meiner Ansicht ein gar zu kompliziertes Material, wenn man die Wirkung des Pepsins oder Chymosins auf das Casein studieren will. Die Milchgerinnung ist auch nicht das für die Chymosinwirkung Wesentliche, wenn sie auch das augenfälligste äußere Zeichen derselben ist. Das Wesentliche ist die Paracaseinbildung, und diese kann man ebensowohl wie die Pepsinverdauung in gewöhnlichem Sinne an reinen Caseinlösungen studieren. Dies ist ein Grund, warum ich zu Versuchen mit Caseinlösungen übergegangen bin, und in solchen Versuchen kann man, wie ich später zeigen werde, die beiden Enzymwirkungen in demselben Milieu studieren, die Wirkung etwaiger hemmenden Stoffe in der Milch eliminieren und damit zeigen, daß der Mangel an Parallelität wenigstens nicht seinen einzigen Grund in Hemmungsstoffen in der Milch hat.

Es bleiben also die in den Infusionen vorkommenden Verunreinigungen oder hemmenden Stoffe übrig und diese könnten hauptsächlich nach zwei Richtungen wirken. Sie könnten einerseits störend auf die Eiweißverdauung (nach Mett) und andererseits hemmend auf die Paracaseinbildung wirken und hierdurch den beobachteten Mangel an Parallelität beider Wir-

kungen hervorbringen. Die erste Möglichkeit hat van Dam<sup>1)</sup> in seiner neulich erschienenen Arbeit zur Erklärung der mangelnden Proportionalität in den Wirkungen zweier Infusionen herangezogen. Zur Erklärung der Beobachtung, daß bei gleicher Labungsgröße zweier Lösungen das Schweinsenzym eine weit stärkere Verdauung nach Mett als das Kalbsenzym zeigt, hat man nämlich nach ihm anzunehmen, daß die geringe Verdauung von Hühnereiweiß durch die Kalbsmageninfusionen den Verunreinigungen der letzteren zuzuschreiben ist. Einer solchen Ansicht kann ich jedoch aus mehreren Gründen, unter denen ich nur den folgenden hier hervorheben will, nicht beipflichten.

Wenn die Labung, wie man nach der unitarischen Ansicht annimmt, nichts anderes als eine Pepsinverdauung ist, warum sollen dann die Verunreinigungen in den Kalbsinfusionen diese Pepsinverdauung (die Milchgerinnung) nicht oder jedenfalls nur in viel geringerem Grade als die andere Pepsinverdauung (die von Hühnereiweiß) hemmen? Warum soll dieselbe Menge Verunreinigungen, welche die Labwirkung einer Kalbsmageninfusion nicht stärker herabsetzt, als daß die letztere bezüglich dieser Wirkung einer Schweinsenzymlösung äquivalent ist, die Hühnereiweißverdauung viel stärker hemmen, trotzdem die letztere unter sonst offenbar günstigeren Verhältnissen als die erstere verläuft? Die Labgerinnung durch eine Kalbsmageninfusion kann nämlich, wie allgemein bekannt, auch bei neutraler Reaktion mit außerordentlich großer Geschwindigkeit verlaufen, während meines Wissens niemand bisher eine sichere Pepsinverdauung in einem neutral reagierenden Medium beobachtet hat. Die Möglichkeit einer solchen ist nun allerdings eine notwendige Voraussetzung für die Richtigkeit der unitarischen Ansicht: wenn man aber auch hiervon absieht, dürften wohl alle darüber einig sein, daß die neutrale Reaktion eine höchst ungünstige, die Gegenwart von Säure dagegen eine günstige Bedingung für die Wirkung des Pepsins ist. Die Hemmungswirkung der Verunreinigungen würde also viel stärker unter den günstigen als unter den ungünstigen Verdauungsbedingungen

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LXIV.

zur Geltung kommen, was nicht nur sehr unwahrscheinlich ist, sondern auch vielen anderen Beobachtungen widerspricht.

Hier könnte man aber die folgende Einwendung machen. Das hartgesottene Hühnereiweiß ist ein viel schwerverdaulicherer Eiweißkörper als das Casein, und es wäre deshalb möglich, daß die Hemmungswirkung der Verunreinigungen bei Verdauung des leichtlöslichen Caseins nicht zum Vorschein kommt, während sie bei der Verdauung des schwerverdaulichen Hühnereiweißes, trotz der günstigeren Reaktion des Milieus sich geltend macht. Diese Möglichkeit läßt sich glücklicherweise leicht prüfen, wenn man statt der Verdauung nach Mett die Caseinverdauung zur vergleichenden Prüfung der Verdauungskraft der Infusionen benutzt. Dies habe ich nun auch getan, wie ich in einem folgenden Aufsätze ausführlicher zeigen werde. In dem letzten Abschnitte des nun vorliegenden Aufsatzes werde ich nur als Beispiele ein paar Versuche anführen, welche zeigen, daß die Anwendung von Caseinlösung statt hartgesottenen Hühnereiweißes das Hauptresultat nicht ändert. Der Mangel an Parallelität macht sich auch bei Anwendung von dem erstgenannten Verdauungssubstrate geltend.

Für die Annahme, daß die Verunreinigungen in den Kalbsmageninfusionen die Mettsche Probe stärker als die Milchgerinnung hemmen und folglich bei stark saurer Reaktion eine stärkere Hemmung als bei neutraler ausüben würden, gibt es also gewiß keine Anhaltspunkte. Die schwächere eiweißverdauende Wirkung einer Kalbsmageninfusion — gegenüber z. B. einer Schweinsenzymlösung bei gleich starker Labwirkung beider — läßt sich dementsprechend auch nicht durch die störende Wirkung dieser Verunreinigungen auf die Eiweißverdauung mit der ersteren erklären. Wer die außerordentlich kräftige Wirkung der Kalbsmageninfusion auf Milch gesehen hat, der findet keine Veranlassung, besondere die Labwirkung stärker hemmende Stoffe in ihnen anzunehmen. Wenn nun aber Milchgerinnung und Eiweißverdauung dieselbe Enzymwirkung sind, wird das Vorkommen von besonderen, die Pepsinverdauung hemmenden Stoffen ebenso unwahrscheinlich.

Ich sprach hier absichtlich von besonderen hemmenden

Stoffen zum Unterschied von derjenigen Hemmung der Pepsinverdauung, welche bei größerer Konzentration einer Infusion oder eines Magensaftes durch das Eiweiß zustande kommen kann, denn diese letztere Art von Hemmung kommt in meinen Versuchen nicht in Betracht. Abgesehen davon, daß ich bei der Pepsinbestimmung nach Mett, wie aus dem Versuche 1 hervorgeht, mit verschiedenen Verdünnungsgraden, gerade um diesen Fehler zu vermeiden, gearbeitet habe, sind nämlich in den Gerinnungsversuchen mit Kalbsinfusionen die Verdünnungen oft so stark, daß der Gehalt an festen Stoffen minimal und belanglos wird. Ich will dies mit einem Beispiel erläutern. Um eine Kalbsmageninfusion hinsichtlich der Labwirkung einer Hundemageninfusion gleichwertig zu machen, mußte ich sie so stark mit Salzsäure von 0,2% HCl verdünnen, daß ihr Gehalt an festen Stoffen nur 0,033 g im Liter betrug. Die Hundemageninfusion, deren Säuregrad ebenfalls 0,2% HCl war, hatte einen Gehalt von 2,25 g festen Stoffen im Liter. Beide Infusionen koagulierten Milch in dem Verhältnisse 2 : 10 in etwas weniger als 2 Minuten: die Hundemageninfusion verdaute gut bei der Mettschen Probe, die Kalbsmageninfusion war dagegen in 24 Stunden vollständig unwirksam. Es ist ohne weiteres einleuchtend, daß die peptische Unwirksamkeit der letztgenannten Infusion nicht durch störende Einflüsse der verschwindend kleinen Mengen von festen Stoffen, welche sie enthielt, sondern durch ihren, infolge der starken Verdünnung zu niedrigen Pepsingehalt bedingt war.

Der Mangel an Parallelität zwischen den beiden Enzymwirkungen in den Hunde- und Kalbsmageninfusionen läßt sich also nach meiner Ansicht nicht durch die Annahme einer Hemmung der peptischen Eiweißverdauung durch Verunreinigungen in den Kalbsmageninfusionen erklären. Erinnerung man sich aber, wie außerordentlich stark man sowohl durch Säurezusatz wie durch Zusatz von  $\text{CaCl}_2$  die Labgerinnung durch Hundemageninfusionen beschleunigen kann, so gewinnt man wohl unbedingt den Eindruck, daß die hemmenden Stoffe, wenn solche überhaupt vorhanden sind, eher auf die milchkoagulierende als auf die eiweißverdauende Wirkung der Magen-



enzyme einen Einfluß ausüben. Will man überhaupt den Mangel an Parallelität der beiden Enzymwirkungen durch die Gegenwart von verunreinigenden, störenden Stoffen erklären, so hat man wohl also die oben besprochene Hypothese umzukehren und die Annahme zu machen, daß in den Schweinsenzymlösungen bezw. in den Hundemageninfusionen usw. Verunreinigungen vorkommen, welche in den Kalbsmageninfusionen fehlen und welche gerade auf die Labwirkung einen hemmenden Einfluß haben.

Nach einer solchen Hypothese wäre, scheint es mir, der Mangel an Parallelität auch viel leichter mit der unitarischen Ansicht zu vereinbaren.

Man darf nämlich nicht übersehen, daß die Versuchsanordnungen bei der Mettschen Probe einerseits und den Milchgerinnungsproben andererseits nicht miteinander vergleichbar sind. In dem einen Falle, bei der Mettschen Probe, arbeitet man mit ziemlich viel Enzym und verhältnismäßig hohen Säuregraden, meistens etwa 0,2% HCl; in dem anderen, bei der Milchgerinnung, arbeitet man des öfteren mit wenig Enzym im Verhältnis zu dem Substrate und bei neutraler oder höchstens schwach saurer Reaktion. Es wäre nun denkbar, daß etwaige Hemmungsstoffe in den Infusionen bezw. Enzymlösungen von Hund, Schwein und einigen anderen Tieren bei höheren Säuregraden unwirksam werden, während sie bei neutraler Reaktion eine starke Wirkung entfalten und bei sehr schwach saurer Reaktion noch recht wirksam sind. In dem Falle könnte man (wenn man vorläufig von der Notwendigkeit eines sauren Mediums für die Pepsinwirkung und von der Wirksamkeit des Chymosins auch bei neutraler Reaktion absieht) die beiden chemischen Prozesse von derselben Enzymwirkung herleiten, und die Paracaseinbildung könnte ein erstes Stadium der Pepsinwirkung sein. Der Mangel an Parallelität würde nämlich daran liegen, daß dieses erste, in einem sehr schwach sauren Medium verlaufende Stadium der Pepsinwirkung eine Hemmung erfahre durch gewisse Stoffe, welche in dem viel stärker sauren Medium bei der Pepsinverdauung nach Mett unwirksam sind.

Um diese Möglichkeit experimentell prüfen zu können,

war es notwendig, Versuche mit Caseinlösungen statt mit Milch auszuführen. Die beiden enzymatischen Prozesse, die Paracaseinbildung und die eigentliche Pepsinverdauung, müssen nämlich in erster Linie an demselben Materiale, dem Casein, studiert werden und sie müssen ferner, wenn möglich, in einer und derselben Lösung verfolgt werden können.

Arbeitet man mit einer reinen Caseinlösung und einer Infusion oder Enzymlösung bei einem so niedrigen Säuregrade, daß eine typische Pepsinverdauung noch möglich ist, so muß allem Anscheine nach auch die Paracaseinbildung in diesem Gemenge verlaufen können, und beide Prozesse finden also in demselben Milieu statt. Wenn nun die Paracaseinbildung und die peptische Caseinverdauung nur verschiedene Stadien der Pepsinwirkung sind, so hat man zu erwarten, daß in dem Gemenge etwa vorhandene hemmende Stoffe ihre Wirkung nicht nur auf das eine Stadium, sondern auf beide ausüben werden. Man könnte also hoffen, mittels einer solchen Versuchsanordnung bei vergleichender Prüfung von z. B. einer Kalbs- und Hundemageninfusion den Mangel an Parallelität aufheben zu können, in welchem Falle es wohl keinen Grund gäbe, an der Möglichkeit einer unitarischen Wirkung zu zweifeln. Wenn es sich dagegen zeigen würde, daß in der Probe mit Caseinlösung und Kalbsmageninfusion die Paracaseinbildung rascher und die peptische Caseinverdauung langsamer, in der Probe mit Hundemageninfusion umgekehrt die Paracaseinbildung langsamer und die peptische Verdauung rascher verlief, so würde dies das Vorkommen von zwei verschiedenen Enzymwirkungen wahrscheinlich machen.

Von diesen Erwägungen ausgehend und da es, unabhängig von der strittigen Frage von der Berechtigung der unitarischen bzw. der dualistischen Ansicht, von Interesse war, die Wirkung der Magenenzyme auf Caseinlösungen unter verschiedenen Versuchsbedingungen zu studieren, entschloß ich mich, die Versuche mit Milch größtenteils zu verlassen und zu Versuchen mit reinen Caseinlösungen überzugehen. Daß man hierbei der Kontrolle und des Vergleiches halber bisweilen auch die Mettsche Probe und die Gerinnungsversuche mit Milch be-

nutzen muß, liegt in der Natur der Sache: das Hauptgewicht mußte jedoch auf die Versuche mit Caseinlösungen gelegt werden.

## II. Versuche mit Caseinlösungen.

Das Casein habe ich immer selbst bereitet. Es war mit Alkohol und Äther behandelt worden, enthielt kein Fett und nur Spuren von Mineralstoffen. In Wasser löste es sich nach Zusatz von der nötigen Menge Alkali leicht und rasch zu einer klaren Flüssigkeit, die nur in dicker Schicht eine schwach angedeutete bläuliche Opalescenz zeigte. Es wurde im Exsikkator über Schwefelsäure getrocknet und vor der Anwendung wurde in einer kleineren Portion das noch rückständige Wasser durch Trocknen bei etwa  $104^{\circ}$  C. bestimmt. Seine Menge betrug meistens gegen 2%. Bei Abwägung der größeren, nur im Exsikkator getrockneten Portion wurde dieser Wassergehalt berücksichtigt, und die Angaben über den Gehalt der Lösungen an Casein beziehen sich also auf wasserfreies Casein.

Zu den Versuchen wurden teils neutrale und teils saure Caseinlösungen verwendet. Die ersteren erhielt ich durch Verreiben des Caseins in Wasser unter Zusatz von meistens 6 ccm  $n_{10}$ -Lauge auf je 1 g Casein unter weiterer Verdünnung, bis in je 100 ccm Flüssigkeit 2 g Casein gelöst waren. Bei Zusatz von 7 ccm  $n_{10}$ -Lauge reagierten die Lösungen ein wenig alkalisch und selbst mit 6,5 ccm war noch eine sehr schwach alkalische Reaktion zu beobachten. Die mit 6 ccm bereiteten Lösungen zeigten wenigstens in größerer Konzentration eine Spur einer sauren Reaktion, von saurem Caseinat herrührend. In 2%iger Lösung konnte jedoch die Reaktion als praktisch neutral betrachtet werden, und diese Lösungen wurden deshalb auch als neutrale, 2%ige Caseinlösungen bezeichnet.

Sauer reagierende Caseinlösungen stellte ich in verschiedener Weise dar. Eine Methode bestand in Zusatz von  $n_{10}$ -HCl zu den neutralen Caseinlösungen, bis die Lösung ziemlich stark opalisierend wurde, der Niederschlag sich aber noch vollständig wieder löste. Diese Lösungen enthielten also saures Caseinat. Nach einer zweiten Methode wurde das Casein mit Wasser verrieben unter Zusatz (auf je 1 g Casein) von 2 ccm

einer Lösung von Natriumdiphosphat, welche 4% wasserfreies  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  enthielt. Auch in diesen Fällen wurden 2% ige Caseinlösungen bereitet. Das Casein löste sich unter diesen Verhältnissen leicht und rasch zu auf Lackmus stark sauer reagierenden Lösungen.

Zur Darstellung von sauren Caseinlösungen nach einer dritten Methode benutzte ich die obengenannten neutralen Lösungen, welche mit einer passenden Menge Salzsäure von 0,1% vermischet wurden. Setzt man die Caseinlösung vorsichtig zu der Säure unter stetigem Umrühren, so löst sich die zuerst auftretende Caseinfällung fast sogleich wieder auf, während dies viel schlechter oder bei Anwendung von kleinen Säuremengen nicht gelingt, wenn man den umgekehrten Weg einschlägt und die Säure zu der Caseinlösung setzt. In obiger Weise kann man nun leicht saure Caseinlösungen darstellen, welche keine sicher nachweisbare Menge freier Salzsäure, sondern anscheinend nur an das Casein gebundene Säure enthalten. Setzt man z. B. 100 ccm einer neutralen, 2% igen Caseinlösung zu 70 ccm einer Salzsäure von 0,1%, so erhält man eine nur schwach bläulich opalisierende Lösung, die auf Lackmus stark sauer reagiert, während sie zu den gewöhnlichen Reagenzien auf freie Salzsäure negativ sich verhält. Taucht man ein Kongopapier in die Lösung ein, so wird es nicht verändert. Betupft man es mit einem Tropfen der Lösung, so sieht man eine schwach angedeutete Reaktion als einen schwer sichtbaren, feinen Ring um den Tropfen herum. Diese Reaktion entspricht ungefähr derjenigen, welche man unter ähnlichen Bedingungen mit einer  $\frac{1}{4000}$ -Salzsäure erhält.

Nach Abzug von derjenigen Menge NaOH, welche zur Lösung des Caseins verbraucht war und welche eine entsprechende Menge der zugesetzten Salzsäure bindet, bleiben in den 170 ccm des obigen Gemenges noch 0,0262 g HCl übrig, und es kommen also in diesem Falle auf je 1 g Casein rund 13,1 mg HCl. Man kann aber auch Lösungen mit noch etwas weniger Säure bereiten, nämlich mit 0,011 g HCl auf je 1 g Casein. Diese Lösungen, welche nicht merkbar auf Kongopapier reagieren, sind aber viel stärker opalisierend. Sie ent-



halten allem Anscheine nach gar keine freie Salzsäure, was auch durch die Beobachtungen von T. B. Robertson<sup>1)</sup> über die Säurebindungsfähigkeit des Caseins wahrscheinlich wird. Er ist nämlich durch seine Untersuchungen zu dem Resultate gelangt, daß das Salzsäureäquivalent von 1 g Casein gleich ca.  $32 \times 10^{-5}$  Gramm-Molekülen Salzsäure ist. In anderer Weise ausgedrückt, bedeutet dies 0,0117 g HCl auf je 1 g Casein, also dieselbe Zahl wie oben.

Nun habe ich allerdings Versuche mit allen obengenannten verschiedenen Arten von Caseinlösungen angestellt: die meisten sind aber mit sauren, nach der letzterwähnten dritten Methode dargestellten Caseinlösungen ausgeführt worden. In diesem Aufsatze werde ich auch nur ein paar Versuche dieser Art als Beispiele mitteilen, während ich in folgenden Aufsätzen über die übrigen Versuche berichten werde.

Da die Chymosinwirkung schon bei neutraler, aber noch besser bei schwach saurer Reaktion vonstatten geht, ist es ohne weiteres verständlich, daß sie auch in diesen, schwach sauren Lösungen möglich sein soll. Daß man in ihnen auch eine Pepsinverdauung in gewöhnlichem Sinne nachweisen kann, werde ich unten zeigen, und ich will deshalb nun zu der Versuchsanordnung übergehen.<sup>2)</sup>

Zur Prüfung auf eine etwaige Paracaseinbildung bin ich von dem längst bekannten, von mir im Jahre 1873 nachgewiesenen,<sup>3)</sup> verschiedenen Verhalten des Caseins und Paracaseins zu Calciumphosphat ausgegangen. Hat man zwei, gleich konzentrierte, neutrale Lösungen von Casein- und Paracasein-

<sup>1)</sup> Journ. of phys. Chemistry, Bd. XIII.

<sup>2)</sup> Daß eine Pepsinverdauung des Caseins auch bei Abwesenheit von freier Salzsäure möglich ist, hat schon J. Schütz (Wien. klin. Wochenschrift, Jahrg. XX, 1907, S. 1361) sehr wahrscheinlich gemacht. Da er aber nicht die Verdauungsprodukte studierte, sondern nur den Aciditätszuwachs als Zeichen und Maß der Verdauung betrachtet hat, kann man, solange die Identität von Pepsin- und Chymosinwirkung nicht bewiesen ist, nicht die Möglichkeit ausschließen, daß es bei der von ihm gewählten Versuchsanordnung hauptsächlich um eine Chymosin- und nicht um eine Pepsinwirkung sich gehandelt hat.

<sup>3)</sup> Upsala Läkareförenings Förhandl., Bd. IX.

alkali, welche dieselbe Menge  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  enthalten, und setzt ihnen eine verdünnte  $\text{CaCl}_2$ -Lösung (ich benutze gewöhnlich eine Lösung von 0,25%) hinzu, so kann man in der Paracaseinlösung eine flockige Fällung oder bei Körpertemperatur ein Gerinnsel, bezw. größere Klumpen von Paracaseinkalk erhalten mit derselben Menge  $\text{CaCl}_2$ -Lösung, welche in der Caseinlösung nur eine stark weiße Opalescenz, aber keine Fällung in der durchsichtigen Flüssigkeit bewirkt.

Die Versuchsanordnung war dementsprechend folgende. Von der Caseinlösung wurden (meistens) 10 ccm mit 1 oder 2 ccm der zu prüfenden Enzymlösung (nach Vorerwärmen beider Lösungen auf  $36 - 38^\circ \text{C}$ .) gemischt und dieses Gemenge eine bestimmte Anzahl Minuten bei derselben Temperatur erwärmt. Darauf wurde im siedenden Wasserbade erhitzt, um das Enzym zu vernichten. Nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur wurde die nötige Menge  $\frac{n}{10}$ -Lauge und  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung zugesetzt und darauf mit steigenden Mengen  $\text{CaCl}_2$ -Lösung geprüft. Wenn eine Paracaseinbildung stattgefunden hatte, erhielt ich nun mit einer gewissen Menge  $\text{CaCl}_2$ -Lösung, gewöhnlich 5—7 ccm, eine mehr oder weniger reichliche Fällung von dem oben angegebenen Verhalten, während die Kontrollprobe mit gekochter Infusion oder überhaupt diejenige Probe, in welcher keine Paracaseinbildung stattgefunden hatte, mehr oder weniger stark weiß opalisierend wurde, aber als durchsichtig und frei von irgend einer Fällung sich erwies.

Als Maß der fortschreitenden Enzymwirkung, d. h. der Pepsinverdauung in gewöhnlichem Sinne, wählte ich den Zeitpunkt, wo eine Abspaltung von Pseudonuclein stattfand. Gegen die Wahl dieses Zeitpunktes wird man wahrscheinlich Einwände erheben, denn die Pepsinverdauung des Caseins und die Ausscheidung des Pseudonucleins ist ein recht komplizierter, mit der Versuchsanordnung wechselnder Vorgang, den man leicht in fehlerhafter Weise deuten kann. Aus diesem Grunde muß ich in einem besonderen Aufsätze meine Untersuchungen über die Casein-Pepsinprobe mitteilen und meine Versuchsanordnung ausführlicher motivieren. Hier will ich nur bemerken, daß unter den hier gewählten Versuchsbedingungen die Feststellung des

obigen Zeitpunktes leicht und zur Verfolgung der Pepsinverdauung gut geeignet ist. Die Ausscheidung eines Niederschlages von Pseudonuclein oder jedenfalls von einem Spaltprodukte, welches reicher an Phosphor als das Casein und Paracasein ist, findet nämlich bei den hier vorkommenden niedrigen Säuregraden in verhältnismäßig kurzer Zeit statt, während sie bei anderer Versuchsanordnung oft viele Stunden oder sogar Tage erfordert. Hierzu kommt noch, daß man bei meiner Versuchsanordnung die in der Caseinlösung allmählich stattfindenden Veränderungen leicht mit dem Auge verfolgen kann, was bei der üblichen Versuchsanordnung und bei Gegenwart von selbst sehr kleinen Mengen freier Salzsäure nicht möglich ist. Wie die Verhältnisse sich gestalten, geht übrigens am besten aus den Versuchen selbst hervor, und ich will deshalb ein paar solche als Beispiele anführen.

Versuch 12. Eine neutrale, 2%ige Caseinlösung wurde mit so viel Salzsäure 0,1% (auf je 100 ccm Caseinlösung 68 ccm Salzsäure) gemischt, daß auf je 1 g Casein 0,0121 g HCl kamen. Der Gehalt an Casein in diesem Gemenge war rund 1,2% und der Säuregrad des Gemenges (wenn man sich die Salzsäure als frei und nicht als von dem Casein gebunden vorstellt) war 0,015% HCl. Die Lösung, welche auf Lackmus stark sauer reagierte, war ziemlich stark bläulichweiß opalisierend.

Die Infusionen waren dieselben wie im Versuch 1 (S. 121). Sie waren mit 9 Volumen Wasser verdünnt und ihr Säuregrad war also 0,02% HCl. Beide Infusionen hatten denselben Gehalt an festen Stoffen, nämlich 0,075%.

a) Zur Prüfung auf Paracaseinbildung wurden folgende 4 Proben angeordnet:

H <sub>1</sub> (Hund)	10 ccm Caseinlösung	+ 2 ccm Hundefusion	6 Min. bei 37° C.
K (Kalb)	10 »	+ 2 » Kalbsinfusion	6 » » 37° »
H <sub>2</sub> (Hund)	10 »	+ 2 » Hundefusion	15 » » 37° »
C (Kontrolle)	10 »	+ 2 » gekochte Infus.	15 » » 37° »

Die zu der Kontrollprobe benutzte gekochte Infusion war ein Gemenge von gleichen Volumina der beiden Infusionen.

Alle 4 Proben wurden im siedenden Wasserbade weiß.

Nach dem Abkühlen wurden sie nach Zusatz von je 1,5 ccm  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lauge wieder ganz klar. Darauf Zusatz von 0,5 ccm einer Lösung von 4% (wasserfreiem)  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  zu jeder Probe. Die  $\text{CaCl}_2$ -Lösung enthielt 0,25%.

Die Kontrolleprobe *C* gab nach Zusatz von insgesamt 7 ccm  $\text{CaCl}_2$  nur eine opalisierende Lösung, die bei 37° stark opalisierend, aber vollständig durchsichtig war.

Die Probe  $\text{H}_1$  (Hundeinfusion 6 Min.) gab mit insgesamt 7 ccm  $\text{CaCl}_2$ -Lösung keine Fällung. Sie wurde aber stärker opalisierend als *C*. Bei 37° wurde sie stark weiß, aber vollkommen durchsichtig ohne Fällung.

Die Probe  $\text{H}_2$  (Hundeinfusion 15 Min.) wurde fast undurchsichtig (mit einer geringen Menge einer feinen Fällung) von 6 ccm  $\text{CaCl}_2$ . Mit 7 ccm eine deutliche flockige Fällung. Bei 37° milchweiß mit ziemlich großen Flocken von Paracaseinkalk.

Die Probe *K* (Kalbsinfusion 6 Min.) gab mit 5 ccm  $\text{CaCl}_2$ -Lösung eine deutliche feine Fällung, die von 6 ccm vermehrt und von insgesamt 7 ccm reichlich flockig wurde. Bei 37° ein lockeres Gerinnsel, welches zu einer zähen Masse von Paracaseinkalk sich zusammenschloß.

In der Probe mit Kalbsenzym hatte also in 6 Minuten eine reichliche Paracaseinbildung stattgefunden. In der entsprechenden Probe mit Hundenzym war dagegen nach 6 Minuten keine solche nachweisbar, wenn auch ein Vergleich mit der Kontrollprobe zeigte, daß das Hundenzym doch nicht ganz ohne Einwirkung gewesen war. Selbst nach 15 Minuten war die Paracaseinbildung in der Probe mit Hundenzym nicht so reichlich wie in der Probe mit Kalbsenzym nach 6 Minuten.

b) Zur Beobachtung der fortgesetzten Enzymwirkung wurden folgende 2 Proben angeordnet.

*H* (Hund) 10 ccm Caseinlösung + 2 ccm Hundemageninfusion.

*K* (Kalb) 10 ccm Caseinlösung + 2 ccm Kalbsmageninfusion.

Nach 8 Minuten war *K* stark blauweiß, *H* war bläulich weiß, nicht halb so stark opaleszierend wie *K*.

Nach 20 Minuten war *K* (in 10 mm dicker Schicht) un-



durchsichtig mit weißlichem Schimmer, aber ohne sichtbare Fällung. *H* war stark weiß opaleszierend, aber durchsichtig. In den nächsten 20 Minuten trat keine sicher nachweisbare Änderung ein.

Nach 1 Stunde war *K* unverändert, aber *H* hatte sich etwas geklärt und nach 1 Stunde 15 Minuten war diese Probe auffallend viel heller als vorher. *K* nicht merkbar verändert.

Nach 1 Stunde 30 Minuten hatte auch *K* sich etwas aufgehellt, aber *H* war nun von neuem stark opaleszierend, durchsichtig. Diese Opalescenz nahm dann stark zu, so daß *H* nach 1 Stunde 45 Minuten fast ganz undurchsichtig war (in 10 mm dicker Schicht). *K* war zu dieser Zeit noch ein wenig heller geworden.

Nach 2 Stunden war *K* von neuem mehr weiß geworden. Die ganz weiße, undurchsichtige Probe *H* gab bei leisem Umschütteln eine reichliche grobflockige Fällung.

Nach 2 Stunden 20 Minuten war *K* stark weiß und nach ungefähr 2 Stunden 30 Minuten gab diese Probe bei leisem Umschütteln eine grobflockige Fällung.

Um etwas größere Mengen dieser Fällungen zu erhalten, wurden 2 neue Proben *H* und *K* von je 1 g Casein in der Lösung mit den entsprechenden Mengen Infusionen bei 37° C. behandelt. Auch diese Proben verhielten sich qualitativ wie die kleineren. *H* gab Fällung nach gegen 2 Stunden, *K* nach ungefähr 2 Stunden 30 Minuten.

Phosphorgehalt der Fällung in *H* = 1,33% P,

» » » » *K* = 1,43% P.

Die grobflockige Fällung hatte also einen höheren Gehalt an Phosphor als sowohl das Casein wie das Paracasein, und man kann sie demnach als ein pseudonucleinartiges Verdauungsprodukt bezeichnen. Stellen wir des Vergleiches halber die Zeiten für die Paracaseinbildung und Pseudonucleinausscheidung neben einander (wobei ich davon absehe, daß die Paracaseinbildung in der Probe mit Hundenzym nach 15 Minuten nicht so weit vorgeschritten war wie in der Probe mit Kalbsenzym nach 6 Minuten), so ergibt sich folgendes:

	Paracaseinbildung	Pseudonucleinausscheidung
Hundeenzym	15 Minuten	2 Stunden
Kalbsenzym	6 Minuten	2 Stunden 30 Minuten.

Es ist zu bemerken, daß bei der Mettschen Probe die Hundemageninfusion als die pepsinreichere, bei der Milchprobe dagegen die Kalbsinfusion als die chymosinreichere sich erwies. Zu demselben Resultate führt, wie man ersieht, auch die Probe mit der Caseinlösung. Von Interesse war auch das Aussehen der beiden Proben während der Verdauung. Erst wurden beide ziemlich rasch stark weiß opaleszierend; aber diese Veränderung trat rascher und stärker bei Gegenwart von Kalbsenzym auf. Dann kam eine Zeit, wo beide wieder etwas heller wurden, die Probe mit Hundeenzym früher und stärker als die andere, und darauf folgte ein zweites Stadium von zunehmender Opalescenz bis zu vollständiger Undurchsichtigkeit und Ausscheidung von Pseudonuclein. Dieses zweite Stadium trat früher bei Gegenwart von Hundeenzym auf.

Ähnliche Resultate haben auch andere Versuche geliefert, von denen ich hier nur den folgenden als noch ein Beispiel anführe.

Versuch 13. Die nach Zusammenmischung mit Salzsäure von 0,1% HCl erhaltene saure Caseinlösung enthielt 1,214% Casein. Auf je 1 g Casein kamen 0,0144 g HCl und der Säuregrad der Caseinlösung (unter derselben Voraussetzung wie in dem vorigen Versuche berechnet) war 0,0174% HCl.

Die beiden Infusionen, von dem Säuregrade 0,2% HCl, wurden erst mit Salzsäure von dieser Stärke dermaßen verdünnt, daß sie beide denselben Gehalt an festen Stoffen 0,322% — hatten. Der Pepsingehalt nach Mett war Hund : Kalb = 16 : 12 und die Labwirkung, mit Milch geprüft = 1 : 16. Sie wurden nun durch Verdünnung mit 9 Volumen Wasser auf den Säuregrad 0,02% HCl, den Enzymgehalt  $\frac{1}{10}$  und einen Gehalt an festen Stoffen von 0,0322% gebracht.

a) Zur Prüfung auf Paracaseinbildung wurden nach demselben Prinzip wie in dem vorigen Versuche 4 Proben  $H_1$ ,  $K$ ,  $H_2$ ,  $C$  angeordnet. Der einzige Unterschied bestand darin,

daß die Proben  $H_1$  und  $K$  12 Minuten, die Proben  $H_2$  und  $C$  30 Minuten bei  $37.5^\circ$  erwärmt wurden.

Die Probe  $H_1$  (Hundeenzym 12 Min.) gab mit 7 cem  $\text{CaCl}_2$ -Lösung keine Fällung, wurde aber bei Körpertemperatur stärker weiß als die Kontrollprobe  $C$  und war also nicht ganz unverändert. Probe  $K$  (Kalbsinfusion 12 Min.) gab mit 4—5 cem  $\text{CaCl}_2$ -Lösung Fällung, mit 7 cem reichliche Fällung und bei Körpertemperatur grobe Paracaseinkalkklumpen. Die Probe  $H_2$  (Hundeenzym 30 Min.) gab mit 6 cem  $\text{CaCl}_2$ -Lösung zweifelhafte Fällung, mit 7 cem ziemlich reichliche Fällung, die bei Körpertemperatur etwas mehr grobblockig in der weißen Flüssigkeit erschien. Sie war bei weitem nicht so reichlich wie in  $K$  und ballte sich nicht zu größeren Massen zusammen.

b) Zur Beobachtung der fortgesetzten Enzymwirkung wurden teils kleinere Proben auf je 10 cem Caseinlösung und 2 cem Infusion und teils zwei größere Proben von je 150 cem saurer Caseinlösung und je 30 cem Infusion,  $H$  mit Hunde- und  $K$  mit Kalbsmageninfusion, angeordnet.

Die Probe  $K$  war nach 37 Minuten weiß, fast undurchsichtig,  $H$  zur selben Zeit nur stark opaleszierend. Nach etwa 1 Stunde, wo  $K$  undurchsichtig und  $H$  stark weiß, aber durchsichtig war, fing die letztere Probe an sich wieder aufzuhellen und sie war nach 1 Stunde 30 Minuten bedeutend heller als früher;  $K$  war gleichzeitig nicht sichtbar verändert. Nach etwa 2 Stunden war  $H$  wieder stärker opaleszierend,  $K$  dagegen ein wenig heller. Nach 3 Stunden 30 Minuten war  $H$  weiß, vollständig undurchsichtig und nach 3 Stunden 50—55 Minuten fand die Ausscheidung von Pseudonuclein statt. Die Probe  $K$  wurde auch nach und nach immer mehr weiß, und die Ausfällung von Pseudonuclein erfolgte in ihr nach 5 Stunden 15 Minuten (ungefähr).

Menge der Pseudonucleinfällung in  $H = 52,4\%$  des Caseins,  
 „ „ „ „  $K = 42,4\%$  „ „ „

Phosphorgehalt der Fällung in  $H = 1,36\%$  P.

„ „ „ „  $K = 1,45\%$  P.

Stellen wir hier wie in dem vorigen Versuche des Ver-

gleiches halber die Zeiten für Paracaseinbildung und Pseudonucleinausscheidung nebeneinander (wobei ich davon absehe, daß in der Probe mit Hundeezym die Paracaseinmenge nach 30 Minuten nicht so reichlich wie in der Probe mit Kalbsmageninfusion nach 12 Minuten war), so erhalten wir folgendes Resultat.

	Paracaseinbildung	Pseudonucleinausscheidung
Hundeezym	30 Minuten	3 Stunden 55 Minuten
Kalbsenzym	12 Minuten	5 Stunden 15 Minuten.

Die Veränderung in dem Aussehen der beiden Versuchslösungen war auch derselben Art wie in dem vorigen Versuche. Sowohl aus den nun als Beispiele mitgeteilten wie aus vielen anderen Versuchen habe ich auch den Eindruck gewonnen, daß hier nebeneinander zwei verschiedene chemische Prozesse verlaufen. Die erste sichtbare Veränderung der Caseinlösungen, welche durch das Auftreten einer zunehmenden Opalescenz sich kundgibt, tritt früher und rascher bei Gegenwart von Kalbsenzym auf. Nach einiger Zeit holt aber, wenn ich so sagen darf, das Hundeezym in seiner Wirkung das Kalbsenzym ein, um dann die Wirkung des letzteren zu überholen. Dies gilt natürlich jedoch nur in dem Falle, daß, wie in den mitgeteilten Versuchen, das Hundeezym bei der Mettschen Probe kräftiger, bei der Milchprobe dagegen schwächer als das Kalbsenzym wirkt. Man kann übrigens diese Unterschiede nur bei passend verdünnten Enzymlösungen beobachten. Bei kräftiger Enzymwirkung kann nämlich die Spaltung des Caseins mit Ausscheidung einer reichlichen Fällung so rasch (in wenigen Minuten) erfolgen, daß man stärkere Unterschiede in dem Aussehen der verschiedenen Proben nicht sehen kann.

Das wesentlichste Resultat der nun als Beispiele mitgeteilten Versuche war also, daß die zwei chemischen Vorgänge, die ich als Paracaseinbildung und Pseudonucleinausfällung bezeichnet habe, bei Einwirkung von Hunde- und Kalbsenzym auf dieselbe Caseinlösung nicht diejenige Parallelität zeigen, die man zu erwarten hätte, wenn sie nur zwei verschiedene Stadien desselben enzymatischen Vorganges sind.



Nun kann man sagen, daß die Identität des ersten Stadiums mit einer echten Paracaseinbildung nicht exakt bewiesen ist, und diese Einwendung ist berechtigt. Ich habe nämlich nur die größere Fällbarkeit des Produktes durch  $\text{CaCl}_2$  gezeigt, nicht aber seine Identität mit Paracasein bewiesen, und ich halte es sogar für höchst wahrscheinlich, daß dieses Produkt ein schon etwas weiter verändertes Paracasein ist. Bei Versuchen mit sauren Paracaseinlösungen, die nach demselben Prinzip wie die sauren Caseinlösungen dargestellt waren und welche keine nachweisbare freie Salzsäure enthielten, habe ich nämlich gesehen, daß eine Paracaseinlösung schon in wenigen Minuten von einer Enzymlösung weiter verändert werden kann. Für das Hauptresultat ist es aber ziemlich gleichgültig, ob das Produkt ein typisches oder ein schon teilweise verändertes Paracasein ist, und es ist eigentlich nur aus Bequemlichkeitsrücksichten geschehen, daß ich das erste Stadium als Stadium der Paracaseinbildung bezeichnet habe. Das Wesentliche ist nämlich, daß man bei der Einwirkung von Magenenzym auf eine Caseinlösung ein Stadium nachweisen kann, welches dadurch gekennzeichnet ist, daß man nach Zusatz von Alkaliphosphat Fällung erhält mit einer  $\text{CaCl}_2$ -Menge, welche unter denselben Bedingungen die unveränderte Caseinlösung nicht fällt. Um von dieser Veränderung des Caseins in kürzerer und bequemerer Weise sprechen zu können, habe ich dieses Stadium als Paracaseinbildung bezeichnet.

Etwas Ähnliches gilt auch hinsichtlich der Pseudonucleinausfällung. Das Pseudonuclein ist bekanntlich kein Körper von konstanter Zusammensetzung und die letztere wechselt sehr mit der Versuchsanordnung. Der Gehalt an Phosphor ist jedoch immer höher als in dem Casein und Paracasein, welche beide denselben Phosphorgehalt von rund 0,8% haben. Da nun das Produkt des zweiten Stadiums immer reicher an Phosphor als das Casein bzw. Paracasein ist, habe ich mir der Bequemlichkeit und Kürze halber erlaubt, dieses zweite Stadium das der Pseudonucleinausfällung zu nennen.

Wie man nun auch die Dinge benennen will, so bleibt doch das Wesentliche, wie schon oben hervorgehoben, daß

man bei der hier in Frage kommenden enzymatischen Umsetzung des Caseins zwei verschiedene Stadien unterscheiden kann, von denen das erste früher bei Gegenwart von Kalbs- als von Hundeenzym, das zweite umgekehrt früher bei Gegenwart von Hunde- als von Kalbsenzym auftrat, wenn ich beide Enzymlösungen auf dieselbe Caseinlösung einwirken ließ. Beide Prozesse verliefen hier unter ganz denselben Versuchsbedingungen in demselben Milieu und beide waren also in gleich hohem Grade der Wirkung von hemmenden oder störenden Einflüssen ausgesetzt. Dieser Mangel an Parallelität scheint mir schwer mit der Annahme zu vereinbaren, daß Pepsin- und Chymosinwirkung eine und dieselbe Enzymwirkung ist.

Ich finde es aber nicht angemessen, auf diese strittige Frage diesmal ausführlicher einzugehen, denn ich will erst meine Untersuchungen nach verschiedenen Richtungen hin etwas weiter führen, namentlich mit Rücksicht auf die Natur der unter verschiedenen Verhältnissen entstehenden Spaltungsprodukte. Je mehr ich mit Caseinlösungen statt mit Milch gearbeitet habe, um so mehr ist mir nämlich die Notwendigkeit sowohl qualitativer Untersuchungen dieser Produkte wie auch quantitativer Bestimmungen klar geworden. Um die Wichtigkeit solcher Untersuchungen nur durch ein Beispiel zu beleuchten, will ich folgende Beobachtung anführen.

Wenn man eine neutral reagierende Lösung von Natriumcaseinat in Wasser mit einer neutralisierten Kalbsmageninfusion bei Körpertemperatur behandelt, so wird das Casein bekanntlich in Paracasein von demselben Phosphorgehalte wie das Casein umgesetzt. Wird dagegen dieselbe neutrale Infusion zu einer, nach der obengenannten dritten Methode dargestellten sauren Caseinlösung, welche keine nachweisbare freie Salzsäure enthält, gesetzt, so kann das Casein in wenigen Minuten sich spalten: es findet eine reichliche flockige Ausscheidung statt, es entstehen ganz andere Produkte und der Phosphor verteilt sich auf Fällung und Flüssigkeit. So fand z. B. in einem Falle die Spaltung des Caseins in 5 Minuten statt, und ich erhielt aus dem Casein 43,17% Fällung mit einem Gehalte von 1,12% Phosphor und 56,83% lösliche Produkte mit 0,56%

Phosphor. Die löslichen Produkte enthalten in solchen Fällen nur äußerst wenig mit Säure fällbares Eiweiß und bestehen aus primären und sekundären Albumosen mit etwas sogenanntem echtem Pepton. Wie eine saure Caseinlösung verhält sich unter denselben Versuchsbedingungen — wenigstens dem Anscheine nach — eine in derselben Weise bereitete saure Paracaseinlösung. Die hierbei entstehenden Produkte habe ich aber noch nicht untersuchen können.

Diese Beobachtungen sind von Interesse, denn sie zeigen, daß das Casein schon in wenigen Minuten eine tiefgreifende Spaltung erleidet. Arbeitet man mit vorerwärmten Lösungen, so kann übrigens die Spaltung fast unmittelbar nach dem Zusammenmischen stattfinden. Von besonders großem Interesse ist es aber, daß die enzymatische Umsetzung des Caseins in anderer Weise in einem neutralen wie in einem sauren Medium verläuft. Bei neutraler Reaktion, also bei reiner Chymosinwirkung, wird Paracasein gebildet; bei saurer Reaktion (auch bei Abwesenheit von freier Salzsäure) entstehen reichlich Albumosen und Peptone.

Wenn man der gang und gäbe-Lehre gemäß die Unwirksamkeit des Pepsins in einem neutralen Medium als etwas für dieses Enzym Charakteristisches betrachtet, so kann man wohl schwerlich die Paracaseinbildung in einer neutralen Alkalicaseinatlösung als eine Pepsinwirkung auffassen. Dagegen liegt es nahe zur Hand, die in einem sauren Medium verlaufende Spaltung des Caseins unter Albumose- und Peptonbildung immer, also auch bei Abwesenheit von freier Säure, als eine Pepsinwirkung zu betrachten. Ich glaube jedoch kaum, daß die Verhältnisse so einfach liegen.

Die Chymosinwirkung verläuft nämlich nach aller Erfahrung weder ausschließlich noch am besten in einem neutralen Medium. Sie verläuft im Gegenteil viel energischer und rascher bei saurer als bei neutraler Reaktion. Auffallend ist auch die außerordentliche Geschwindigkeit, mit welcher die Spaltung des Caseins bei der obenerwähnten Versuchsanordnung von statten geht. Diese, bisweilen fast augenblickliche Spaltung bei Abwesenheit von freier Säure, also unter Verhältnissen, welche

für eine Pepsinverdauung weniger günstig sind, erinnert so sehr an die momentane Gerinnung der Milch, daß man unbedingt den Eindruck einer Labwirkung bekommt.

Im Laufe meiner Untersuchungen habe ich auch immer mehr den Eindruck gewonnen, daß die Infusionen der Tiermägen zwei proteolytische Enzyme<sup>1)</sup> enthalten, die unter etwas verschiedenen Bedingungen wirken. Das eine wäre das Chymosin, welches sowohl bei neutraler wie bei schwach saurer Reaktion — und kräftig auch bei Abwesenheit von freier Säure wirkt. Das andere, das Pepsin, welches nicht bei neutraler sondern nur bei saurer Reaktion, und zwar besonders bei Gegenwart von freier Säure wirksam ist.

Daß eine peptische Verdauung auch bei Abwesenheit von freier Salzsäure und sogar bei Salzsäuredefizit (vgl. besonders J. Schütz<sup>2)</sup>) geschehen kann, ist wohl unzweifelhaft; daß es in diesen Fällen ausschließlich um eine Pepsinwirkung sich handelt, ist aber nach meiner Ansicht nicht bewiesen. Wenn das Chymosin außer dem Casein auch andere gelöste Eiweißstoffe bei Abwesenheit von freier Säure spaltet, wäre es wohl möglich, daß es unter den eben genannten Verhältnissen diese seine Wirkung entfaltet. Es könnte sogar möglich sein, daß das Chymosin gerade die physiologische Aufgabe hätte, die Verdauung im Magen in dem Stadium, wo nur gebundene Salzsäure vorhanden ist, zu erleichtern, in welchem Falle das regelmäßige Vorkommen des Chymosins in dem Magensaft leicht verständlich sein würde. Diese Möglichkeit schien mir jedenfalls als Arbeitshypothese bei dem fortgesetzten Studium der Pepsin- und Chymosinwirkung dienen zu können, um so mehr, als gewisse, sonst recht schwerverständliche Beobachtungen durch die Annahme eines Zusammenwirkens von zwei Enzymen in dem sauren Medium sich leicht erklären lassen.

<sup>1)</sup> Es ist natürlich nicht notwendig, zwei verschiedene Enzyme anzunehmen; denn die Hypothese von Nencki und Sieber ist auch für diesen Fall annehmbar.

<sup>2)</sup> l. c. Wiener klin. Wochenschrift, 1907, und Bioch. Zeitschrift. Bd. XXII.



Die vielen Fragen, welche in Anknüpfung an diese Hypothese sich aufdrängen, haben meinen Untersuchungen einen viel größeren Umfang gegeben, als ich von Anfang an beabsichtigt hatte, und es wird deshalb auch wahrscheinlich noch ziemlich lange dauern, bevor ich imstande sein werde, weitere Mitteilungen auf diesem Gebiete zu machen. Unter solchen Umständen habe ich mit der Veröffentlichung der oben mitgeteilten Versuche, welche einen mehr vorläufigen und orientierenden Charakter haben, nicht länger zögern wollen.

---