

Über die milchkoagulierende und proteolytische Wirkung der Rinder- und Kalbsmageninfusion und des natürlichen Kalbsmagensaftes.¹⁾

Von
A. Rakoczy.

Mit zwei Abbildungen im Text.

(Aus dem physiologisch-chemischen Laboratorium der kais. St.-Wladimir-Universität in Kiew.)

(Der Redaktion zugegangen am 26. Juli 1910.)

Wenn man die Geschichte der Frage von der Identität des Pepsins und Chymosins, die bereits ungefähr 10 Jahre lang in der physiologischen Literatur auf der Tagesordnung steht, verfolgt, so lenkt folgender Umstand die Aufmerksamkeit auf sich. Die ursprüngliche Lehre vom Labferment (Chymosin) als einem Ferment, das Milch koaguliert und ganz bestimmte andere Eigenschaften besitzt, wurde von Hammarsten²⁾ (und später von A. Schmidt³⁾) auf Grund seiner Untersuchungen von Mageninfusionen von Kälbern aufgestellt und weiter ausgebaut, und erst in der Folge wurde die Gegenwart des neuen Ferments auch bei verschiedenen anderen Tieren vermerkt, wobei die Forscher sich mit der bloßen Feststellung der milchkoagulierenden Fähigkeit begnügten, ohne die diesem Ferment von Hammarsten zugeschriebenen Eigenschaften im einzelnen nachzuprüfen. So entstand die dualistische Anschauung, die das Vorhandensein des Pepsins und Chymosins im Magen der meisten Tiere annimmt. Die Anhänger der Identitätstheorie

¹⁾ Mitgeteilt am 4./I. 1910 (alt. St.) in der physiologischen Sektion des XII. Kongresses russischer Naturforscher und Ärzte in Moskau.

²⁾ Hammarsten, Malys Jahresber., Bd. II, 1872, S. 118.

³⁾ A. Schmidt, Ibid., Bd. IV, 1874, S. 160.

(Nencky und Sieber,¹⁾ Pekelharing,²⁾ Pawlow und Parastschuk,³⁾ Jakoby,⁴⁾ Sawitsch,⁵⁾ Sawjalow,⁶⁾ Gewin⁷⁾ u. a.), von denen die selbständige Existenz des Chymosins von verschiedenen Gesichtspunkten aus geleugnet wird, gingen einen anderen Weg: ohne auf Alter und Art des Tieres Rücksicht zu nehmen, schöpften sie ihre Hauptbeweise aus Beobachtungen an den Verdauungssäften von erwachsenen Hunden und ergänzten dieselben durch Versuche am Magensaft des Menschen (Migai und Sawitsch⁸⁾), an verschiedenen fabrikmäßig hergestellten Pepsin- und Labpräparaten und an Schweinemageninfusionen und verallgemeinerten ihre Beobachtungen, dabei dem ursprünglichen Quell der Lehre vom Chymosin — den Magenfermenten von Kälbern⁹⁾ am allerwenigsten Aufmerksamkeit zuwendend. Somit gehen diese beiden nur auf den ersten Blick einander entgegengesetzten Theorien in ihrer Argumentation von einem völlig verschiedenen faktischen Material aus.

Die zahlreichen zugunsten der Identität von Pepsin und Chymosin angeführten Beweisgründe gehen im wesentlichen auf den Satz hinaus, daß die proteolytische und milchkoagulierende Wirkung des Magensaftes untrennbar sind und sich stets einander parallel ändern. Unter natürlichen Verhältnissen gelangt stets neben der proteolytischen auch die milchkoagulierende Wirkung zur Beobachtung, wobei das quantitative Verhältnis (die Proportionalität) zwischen der Kraft beider Wirkungen, sowohl bei unter verschiedenen Versuchsbedingungen mit den Säften einer und derselben Tierart (Hund) angestellten Versuchen, als auch bei

¹⁾ Nencki und Sieber, Diese Zeitschrift, Bd. XXXII, S. 291.

²⁾ Pekelharing, Ibid., Bd. XXXV, S. 30.

³⁾ Pawlow und Parastschuk, Ibid., Bd. XLII, S. 415.

⁴⁾ Jakoby, Biochem. Zeitschrift, Bd. I, S. 53.

⁵⁾ Sawitsch, Diese Zeitschrift, Bd. LV, S. 84.

⁶⁾ Sawjalow, Ibid., Bd. XLVI, S. 307.

⁷⁾ Gewin, Ibid., Bd. LIV, S. 32.

⁸⁾ Migai und Sawitsch, Ibid., Bd. LXIII, S. 405.

⁹⁾ Die Versuche von Gewin und van Dam, die Mageninfusionen von Kälbern betreffend, werden weiter unten besprochen werden.

der Vergleichung der Verdauungssäfte von Tieren verschiedener zoologischer Arten beständig bleibt: 2 Säfte, die durch die entsprechende Verdünnung auf ein und dieselbe Verdauungskraft gebracht wurden, koagulieren Milch *ceteris paribus* in dem gleichen Zeitraum, und umgekehrt verdauen 2 auf ein und dieselbe milchkoagulierende Kraft gebrachte Säfte gleich stark. Alle auf die Trennung dieser Fermente gerichteten künstlichen Verfahren erreichen ihr Ziel nicht, da die bei denselben zur Beobachtung gelangende Vernichtung einer der Wirkungen durch den Einfluß des Reaktionsmediums bedingt wird und bei entsprechender Versuchsanordnung die verschwundene Wirkung sich wieder einzustellen vermag.

Diese Sätze sind wissenschaftlich begründet und vollkommen beweiskräftig; sie sind aber nur in bezug auf diejenigen Objekte anwendbar, an denen sie erhalten wurden. Man kann als endgültig festgestellt erachten: 1. daß mit dem Pepsin und überhaupt mit allen proteolytischen Fermenten die Fähigkeit, Milch zu koagulieren, untrennbar verbunden ist; 2. daß im Magensaft des Menschen und des Hundes, wie auch in Präparaten aus Schweinemägen und bei den Wirbellosen kein Chymosin (im Sinne Hammarstens) vorhanden ist und endlich 3. daß alle bis jetzt untersuchten Labpräparate eine mehr oder minder maskierte proteolytische Wirkung aufwiesen. Diese Tatsachen beweisen aber noch nicht, daß das Chymosin in den Magen von Kälbern und anderen in dieser Richtung noch nicht untersuchten jungen Säugetieren nicht existiert.

Da ich nun aus diesem Grunde die Hauptthesen Hammarstens als unwiderlegt ansah, unternahm ich es, die von Pawlow und Parastschuk und anderen Anhängern der Identitätstheorie ausgearbeiteten Methoden auf die Erforschung der verdauenden und milchkoagulierenden Wirkung der Mageninfusionen verschiedener Tiere anzuwenden und begann meine Versuche mit der Untersuchung dieser Eigenschaften in den Mageninfusionen von Kälbern und erwachsenen Rindern; die Wahl gerade dieser Objekte hatte den Vorzug, daß man die milchkoagulierende Wirkung der Verdauungsfermente an der Milch eines Tieres derselben Art bestimmen konnte; denn

wenn das neugeborene Tier spezielle Vorrichtungen (Ferment) für die Koagulation der ihm als Nahrung dienenden Milch besitzt, so mußten dieselben bei einer solchen Versuchsanordnung aufs schärfste hervortreten.

Die Untersuchungen wurden nach folgendem Plane ausgeführt:

1. Vergleichung der proteolytischen und milchkoagulierenden Kraft der künstlichen Magensäfte (Mageninfusionen) des erwachsenen und neugeborenen (saugenden) Tieres.

2. Untersuchung der Einwirkung langandauernder Erwärmung im Brutschrank (bei 40° C.) auf die fermentativen Eigenschaften ebenderselben Säfte.

3. Versuche, die die Trennung der Fermente bezweckten.

Als Hauptmaterial für die Versuche dienten Magenschleimhautinfusionen von Kälbern und Rindern; außerdem wurden einige Versuche mit Labpräparaten (Lab-Grübler und Lab-Kahlbaum) angestellt: die wichtigsten Versuche wurden am natürlichen Magensaft eines Kalbes nachgeprüft.

Methodik.

Für die Untersuchungen wurden die Labmagen (Abomasus) von im Schlachthaus getöteten Tieren genommen; das Alter der erwachsenen Tiere war nicht genau bekannt; bei der Wahl von Kalbsmagen nahm ich sowohl die Größe des Magens als auch die Beschaffenheit des Inhalts (ich wählte nur solche, die ausschließlich Käsemilchsollen enthielten) und zum Teil die Farbe der Schleimhaut zur Richtschnur. Ich bemerkte nämlich, daß die Magenschleimhaut bei sehr jungen Kälbern bleich zu sein pflegt, während sie bei erwachsenen Tieren von rosaroter Farbe ist.

Die Infusionen wurden nach Hammarsten¹⁾ hergestellt: die gut mit kaltem Wasser ausgewaschene und leicht mit Filtrierpapier abgetrocknete Schleimhaut des Fundusteils des Magens wurde mit einem Uhrglas abgeschabt und mit 10—15 Teilen 0,2- oder 0,18%iger (n/30) HCl-Lösung unter Zusatz von einigen Tropfen Toluol in der Kälte (bei 2 bis 8° C.) aufbewahrt; nach etwa 24 Stunden wurde die erhaltene Infusion durch Filtrierpapier filtriert und nach Zusatz einiger Tropfen Toluol in den Eisschrank gestellt; mitunter wurden die Infusionen steril durch den Tonfilter filtriert und in einem sterilen Gefäß aufbewahrt. Das Filtrieren durch einen Tonfilter schwächt die fermentative Wirkung beträchtlich ab; dafür erhält man aber vollkommen klare Infusionen, die sich lange

¹⁾ Hammarsten, Diese Zeitschrift, Bd. LVI, S. 26.

unverändert erhalten und bei langandauernder Erwärmung im Thermostaten nicht trüben.

Die Gefäße wurden mit strömendem Dampf oder kochendem Wasser sterilisiert.

Die proteolytische Kraft wurde nach Mett (10—18 und mehr Stunden bei 40° C.) bestimmt. Die Rörchen wurden mit mit Glascherben geschütteltem und durch Flanell filtriertem Hühnereiweiß gefüllt. Zur Bestimmung der proteolytischen Kraft sehr schwacher Infusionen und ebenso in den Fällen, wo man eine Erwärmung zu vermeiden hatte, gelangte mit Alkohol-Äther fixiertes und bei 40° C. getrocknetes (Sawjajlow¹⁾) Grütznersches Fibrin-Karmin oder gewöhnliches unter Glycerin aufbewahrtes Fibrin zur Anwendung. Die milchkoagulierende Kraft wurde gewöhnlich bei 39—40° C. durch Zusatz von 1 ccm saurer (0,2% oder $\frac{1}{20}$ -HCl) Infusion zu 10 ccm Milch bestimmt, wobei zur Kontrolle stets mit der entsprechenden Menge nur von Säure allein versetzte Milch aufgestellt wurde; durch wiederholte Versuche überzeugte ich mich davon, daß zur Fällung des Caseins aus der Milch durch die Säurewirkung allein nicht weniger als 3 ccm 0,2%ige HCl auf 10 ccm Milch erforderlich sind. Außerdem wurden in einigen Fällen mit $\frac{1}{10}$ -NaOH (mit Lackmoid) oder mit CaCO₃ neutralisierte Infusionen benutzt. Für jede Versuchsreihe wurde ein und dieselbe vollkommen frische oder im Eisschrank mit Chloroform aufbewahrte Milchportion benutzt. Die Milch wurde stets von ein und derselben Kuh genommen. In einigen Versuchen wurde die milchkoagulierende Kraft nach dem Verfahren von Morgenroth-²⁾Fuld³⁾ bestimmt: die Infusion (0,2%ige HCl) wurde systematisch 10, 15, 20, 30mal usw. mit 0,2%iger HCl verdünnt, in eine Reihe von Reagenzglaschen je 10 ccm auf 8° C. abgekühlte Milch gegossen und in jedes derselben je 1 ccm der verdünnten Infusion — folglich gleiche Mengen HCl, aber verschiedene Fermentmengen — hinzugesetzt. Alle Reagenzgläser wurden für $\frac{1}{2}$ Stunde in den Eisschrank (8° C.) und sodann auf 5 Minuten in ein auf 40° C. temperiertes Wasserbad gestellt, worauf das Verdünnungsmaximum (resp. das Minimum an Fermentgehalt), bei welchem unter den gegebenen Bedingungen die Milchkoagulation noch erfolgt, festgestellt wurde. Diese Methode ist ihrer Präzision halber sehr empfehlenswert, erfordert aber leider sehr viel Zeit und erweist sich daher in denjenigen Fällen, wo man genötigt ist, gleichzeitig eine größere Anzahl von gleichartigen Bestimmungen auszuführen, als unanwendbar.

¹⁾ l. c. S. 319.

²⁾ Morgenroth, Zentralbl. f. Bakteriol., Bd. XXVI, S. 346.

³⁾ Fuld, Hofmeisters Beitr., Bd. II, S. 169. — Münch. med. Wochenschrift, 1902, S. 465.

⁴⁾ Becker, Hofmeisters Beitr., Bd. VII, S. 89.

I. Das Verhältnis zwischen proteolytischer und milchkoagulierender Wirkung in Abhängigkeit vom Alter.

Wie bereits erwähnt, muß laut der Lehre der Unitarier die Proportionalität zwischen der milchkoagulierenden und proteolytischen Kraft sowohl in den Grenzen einer und derselben Tierart, als auch bei der Vergleichung der Verdauungssäfte von Tieren verschiedener zoologischer Arten erhalten bleiben. Pawlow und Parastschuk und später Sawitsch haben das an den auf verschiedenartige Nahrung hin, oder aus den verschiedenen Teilen des Verdauungstraktus abgesonderten Verdauungssäften des Hundes gezeigt. Migai und Sawitsch vermerkten die gleiche Proportionalität im Magensaft des Hundes und des Menschen und Sellier¹⁾ hat das Vorhandensein dieser Proportionalität bei verschiedenen Arten von wirbellosen Meertieren beobachtet.

Im Widerspruch zu diesen Angaben führt Hammarsten²⁾ eine Reihe von Beispielen an, die das Fehlen der Proportionalität beider Wirkungen in Mageninfusionen von Kälbern, Pferden, Hühnern und Hechten beweisen.

Die Verminderung der milchkoagulierenden Fähigkeit der Mageninfusionen von Wiederkäuern mit dem Alter ist längst bekannt (Fuld³⁾), und in der Technik benutzt man zur Bereitung von Labpräparaten die Magen gerade von Kälbern und nicht von erwachsenen Tieren.

Die folgenden Zahlendaten zeigen, daß das Verhältnis zwischen beiden Wirkungen in Mageninfusionen von Kälbern und Rindern ein verschiedenes ist. Zum Vergleich wurden in gleicher Weise hergestellte Infusionen genommen; die milchkoagulierende Kraft wurde durch Zusatz von 1 ccm saurer Infusion zu 10 ccm Milch bei 40° C bestimmt.

I. Infusionen 1 : 10 (0,2%ige HCl):

Rinderinfus. koag.	7"	verd. (16 Stunden)	11,25 mm
Kalbsinfus.	> < 5"	> (16 >)	3,5 >

¹⁾ Sellier, Compt. rend. soc. biol., Bd. LXVII, S. 237.

²⁾ Hammarsten, Diese Zeitschrift, Bd. LVI, S. 26.

³⁾ Fuld, Ergebn. d. Physiol., Bd. I, S. 473.

II. Infusionen 1 : 10 (0,2%ige HCl):

Rinderinfus. koag. 120"	verd. (16 Stunden) 11,0 mm
Kalbsinfus. > fast momentan	> (16 >) 7,5 >

III. Infusionen 1 : 10 ($n/20$ -HCl):

Rinderinfus. koag. 135"	verd. (18 Stunden) 6,5 mm
Kalbsinfus. > 5—10"	> (18 >) 6,6 >

IV. Infusionen ($n/20$ -HCl) mit $n/20$ -HCl bis zu gleicher Verdauungskraft verdünnt:¹⁾

Rinderinfus. koag. 8' = 480"	verd. (16 Stunden) 1,0 mm
Kalbsinfus. > $1/3$ ' = 20"	> (16 >) 1,0 >

V. Infusionen ($n/20$ -HCl) durch ein Tonfilter filtriert und mit $n/20$ -HCl bis zu gleicher Verdauungskraft verdünnt:

Rinderinfus. koag. $5\frac{1}{2}$ ' = 330"	verd. (14 Stunden) 4,0 mm
Kalbsinfus. > < 10"	> (14 >) 4,1 >

VI. Infusionen ($n/20$ -HCl) mit $n/20$ -HCl bis zu gleicher Verdauungskraft verdünnt; zur Ausgleichung der Quantitäten von Beimengungen, die etwa beschleunigend oder hemmend auf die Wirkung der Fermente einzuwirken vermöchten, zur Rinderinfusion ein gleiches Volumen auf 90° (bis zu völliger Vernichtung der Fermente) erhitzte Kalbsinfusion hinzugesetzt und umgekehrt:

Rinderinfus. (+ erh. K) koag. 10' = 600"	verd. (14 Stunden) 3,0 mm
Kalbsinfus. (+ > R) > < 10"	> (14 >) 2,9 >

VII. Dasselbe, nur die Infusionen mit $n/20$ -HCl bis zu fast gleicher milchkoagulierender Wirkung verdünnt:

Rinderinfus. (+ erh. K) koag. 12' = 720"	verd. (10 Stunden) 2,0 mm
Kalbsinfus. (+ > R) > 8' = 480"	> (10 >) 0 >

Die angeführten Beispiele zeigen, daß es in den Grenzen einer und derselben Tierart keine Proportionalität zwischen der milchkoagulierenden und proteolytischen Wirkung gibt — beim jungen Tiere herrscht die milchkoagulierende, beim erwachsenen die proteolytische vor. Bei gleicher Verdauungswirkung zeigt die Kalbsinfusion eine um ca. 20—60 mal größere milchkoagulierende Kraft als die Rinderinfusion.

¹⁾ Beim Verdünnen nahm ich das (Schütz-Borissowsche) Quadratwurzelgesetz zur Richtschnur.

II. Der Einfluß langdauernder Erwärmung im Brutschrank bei 39—40°.

Diese Frage stellt einen der am meisten verwickelten Punkte in der Lehre von den Magensaftfermenten dar. Nach Hammarsten wird das Chymosin des Kalbsmagens nach 2-tägigem Erwärmen der sauren Infusion bei 39—40° zerstört, während das Pepsin fast unverändert bleibt. Pawlow und Parastschuk und später Sawitsch bewahrten natürlichen Magensaft vom Hunde lange Zeit hindurch (mehr als 1 Monat) im Brutschrank auf und fanden, daß beide Wirkungen — die proteolytische und milchkoagulierende — parallel abnehmen und gleichzeitig endgültig vernichtet werden, woraus sie schlossen, daß das Chymosin überhaupt nicht gesondert vom Pepsin zerstört werden kann; diese Versuche haben eine der Hauptstützen für den Aufbau der Identitätstheorie abgegeben. Von den übrigen Forschern haben Bang¹⁾ und Schmidt-Nielsen²⁾ an Kalbsmageninfusionen die Hammarstenschen Ergebnisse bestätigt, während andere, wie z. B. Jakoby, Fuld, Gewin u. a. m. zu negativen Resultaten gelangten. Zur kritischen Besprechung dieser Untersuchungen werde ich nach der Darlegung meiner eigenen Versuche schreiten.

Die Infusionen wurden in eine Reihe von sterilen Erlenmeyerschen Kölbchen gegossen, die verkorkt und in den Brutschrank bei einer Temperatur von 39—40° C. gestellt wurden. Nach einer bestimmten Zeit (12—24 Stunden) wurde je ein Kolben hervorgeholt. Um den Einfluß von Zufälligkeiten auszuschließen, wurden alle dem Brutschrank entnommenen Kölbchen im Eisschrank aufbewahrt und die Bestimmungen der fermentativen Kraft aller Portionen gleichzeitig vorgenommen. Nach der Bestimmung der milchkoagulierenden Kraft sämtlicher Portionen wurden Mettsche Röhrchen zwecks Feststellung der Verdauungsfähigkeit in die Kölbchen gebracht.

VII. Rinderinfusion (0,18% HCl):

¹⁾ Bang, Pflügers Archiv, Bd. LXXIX, S. 425.

²⁾ Schmidt-Nielsen, Diese Zeitschrift, Bd. XLVIII, S. 92.

Dauer der Erwärmung	Milchkoagulierende Wirkung		Proteolytische Wirkung		
	Gerinnungs- zeit	Relative Ferment- menge	Verdaut in 12 Std. mm	Quadrat mm	Relative Ferment- menge
0 Stunden	2½' = 150''	4,4	3,8	14,4	1,44
24 »	3' = 180''	3,66	4,0	16,0	1,6
48 »	4' = 240''	2,72	3,6	13,0	1,3
72 »	11' = 660''	1,0	3,2	10,1	1,0

IX. Rinderinfusion (0,2% HCl):

Dauer der Erwär- mung Std.	Milchkoagulierende Wirkung					Proteolytische Wirkung		
	Saure (0,2%ige) Infusion			Mit CaCO ₃ neutralisierte Infusion		Ver- daut in 16 Std. mm	Quadrat mm	Rela- tive Fer- ment- menge
	Gerin- nungs- zeit	Relat. Fer- ment- menge	Rel. Ferment- menge nach Morgen- roth-Fuld ¹⁾	Gerin- nungs- zeit	Relat. Fer- ment- menge			
0	7''	8,5	75	27''	11,0	11,25	126	7,9
24	20''	3,0	50	40''	7,5	10,5	110	6,9
48	16''	3,7	50	60''	5,0	9,5	90	5,6
72	30''	2,0	30	120''	2,5	9,75	95	5,9
96	35''	1,7	25	120''	2,5	7,5	56	3,1
144	60''	1,0	10	300''	1	4,0	16	1

In diesen 2 Versuchen ist der Unterschied im Erlöschen beider Wirkungen recht geringfügig,²⁾ was mit den von Pawlow und Parastschuk am Magensaft des Hundes erhaltenen Ergebnissen übereinstimmt.

Etwas ganz anderes wird bei den Kalbsmageninfusionen beobachtet.

¹⁾ Die Verdünnung, bei der 1 ccm saurer Fermentlösung 10 ccm Milch nach vorausgegangener ½-stündiger Einwirkung in der Kälte (bei 8° C.) in 5 Minuten bei 40° C. koaguliert.

²⁾ Die verhältnismäßig kleinen Unterschiede lassen sich teilweise durch Beobachtungsfehler, hauptsächlich aber durch die Unvollkommenheiten der Methodik der quantitativen Fermentbestimmung erklären.

X. Kalbsinfusion (0,2% HCl):

Dauer der Erwärmung bei 40° in Std.	Milchkoagulierende Wirkung				Proteolytische Wirkung		
	Saure (0,2% HCl) Infusion		Mit CaCO ₃ neutralisierte Infusion		Verdaut in 16 Std. in mm	Quadrat mm	Relative Fermentmenge
	Koagulationszeit	Relative Fermentmenge	Koagulationszeit	Relative Fermentmenge			
0	< 7"	> 164,0	20"	180,0	4,0	16,0	2,78
12	45"	25,4	90"	40,0	4,0	16,0	2,78
24	180"	6,3	1260"	2,9	3,7	13,6	2,36
36	270"	4,2	3600"	1,0	3,4	11,6	2,0
48	330"	3,5	> 3 St.	—	3,0	9,0	1,56
72	1140"	1,0	—	—	2,4	5,76	1,0
120	> 3 St.	—	—	—	0,4	0,16	—
182	> 3 "	—	—	—	—	—	—

XI. Kalbsinfusion (0,2% HCl):

Dauer der Erwärmung bei 40° in Std.	Milchkoagulierende Wirkung					Proteolyt. Wirkung		
	Saure (0,2% HCl) Infusion			Mit CaCO ₃ neutralisierte Infus.		Verdaut in 16 Std. mm	Quadrat mm	Relative Fermentmenge
	Koagulationszeit	Relative Fermentmenge	Nach Morgenth-Fuld	Koagulationszeit	Relative Fermentmenge			
0	< 5"	> 230	200	30"	44	3,5	12,1	12,1
12	20"	60	20	165"	8	—	—	—
24	75"	16	16	560"	2,36	3,0	9,0	9,0
36	120"	10	8	1320"	1	—	—	—
48	120"	10	8	> 2 St.	—	2,1	4,4	4,4
60	300"	4,0	5	—	—	—	—	—
96	1200"	1,0	3	—	—	1,0	1,0	1,0
120	—	—	1	—	—	—	—	—
144	1800"	0,66	—	—	—	—	—	—

Auf den Tabellen X und XI fällt die Verdauungskraft langsam und gleichmäßig, während die milchkoagulierende sich im Verlauf der ersten 2 Tage um mehr als 25 mal verringert und sodann beginnt analog der verdauenden langsam zu fallen:

wenn man aber zur Bestimmung der milchkoagulierenden Kraft mit CaCO_3 neutralisierte Infusion verwendet, so erweist sich die letztere nach 2-tägiger Erwärmung als unwirksam.

Der Einfluß der Erwärmung tritt noch anschaulicher hervor, wenn man die Resultate des Versuchs graphisch darstellt: Auf der Abszissenachse die Erwärmungszeiten in Stunden, auf der Ordinatenachse — die relativen Fermentquantitäten verzeichnet, die für die milchkoagulierende Wirkung nach dem Zeitgesetz, für die Verdauungswirkung nach dem Quadratwurzelgesetz berechnet wurden, indem man als Einheit die Fermentmenge zu Ende des Versuchs annahm.

Die Rinderinfusion (Figur 1) zeigt ein fast paralleles Fallen beider Wirkungen; in der Kalbsinfusion (Figur 2) springt das Fehlen des Parallelismus scharf in die Augen: die proteolytische Kraft sinkt gleichmäßig,

während die milchkoagulierende im Laufe der ersten 2 Tage sehr schnell fällt und beginnend mit dem 3. langsam, fast parallel der proteolytischen sinkt; die Kurve der proteolytischen Wirkung nähert sich einer wenig geneigten Geraden, die der milchkoagulierenden erinnert an eine auf Assymptoten bezogene Hyperbel. Solche Versuche wurden von mir vielfach mit verschiedenen Infusionen und auch mit einer sauren Lösung ($n_{20}\text{-HCl}$) von Grüblerschem Labpulver wiederholt. Die absoluten Größenwerte der Abnahme der milchkoagulierenden Kraft von Kalbsinfusionen variierten unbedeutend, vielleicht in Abhängigkeit vom Alter der Tiere und von gewissen anderen Versuchsbedingungen; ebenso wurde in Rinderinfusionen mitunter eine gewisse Störung der Proportionalität beobachtet, die der-

Fig 1 Rindermageninfusion. (Versuch VIII)

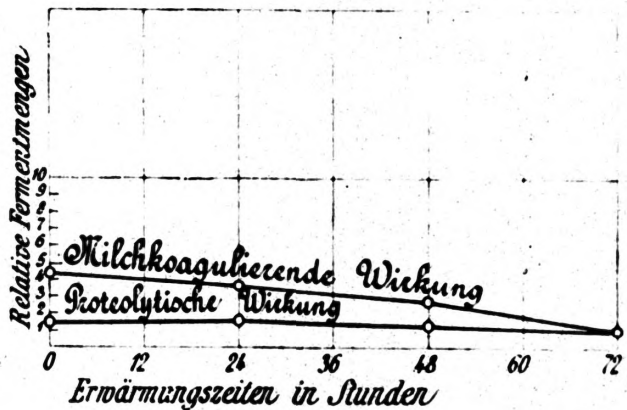
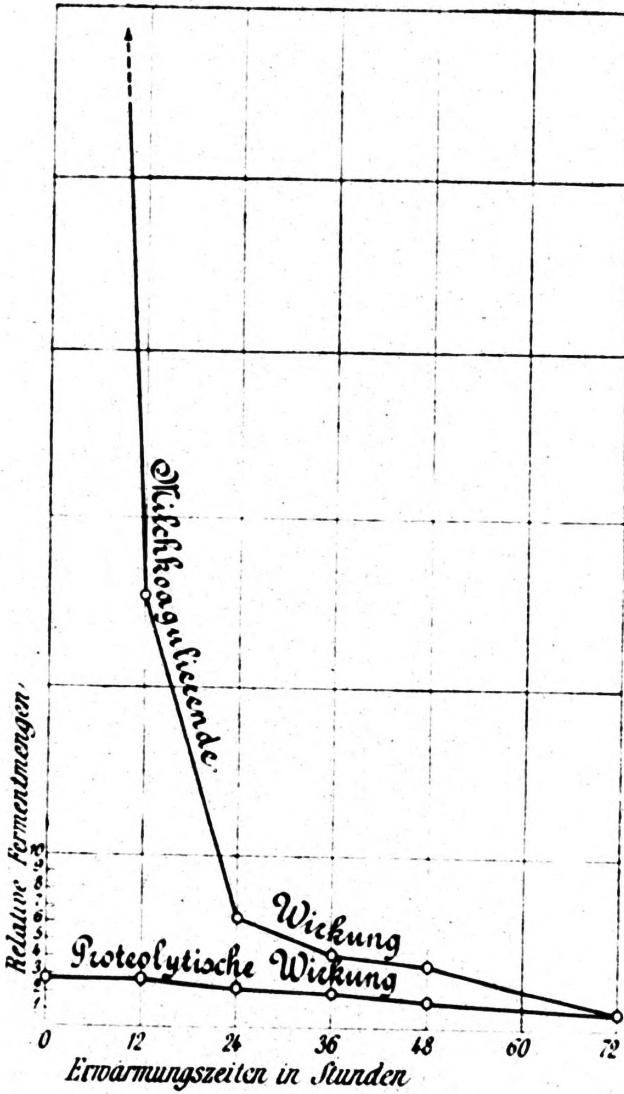


Fig. 2. Kalbmageninfusion. (Versuch X)



jenigen der Kalbsinfusionen analog, aber nur in viel geringerem Grade ausgeprägt war; die endgültige Vernichtung beider Wirkungen erfolgte mitunter gleichzeitig, mitunter jedoch gelang es, die eine oder die andere länger zu verfolgen, was augenscheinlich von der Empfindlichkeit der angewandten Untersuchungsmethoden abhing. Der Charakter der Kurven blieb trotzdem im allgemeinen der gleiche: in der

Rinderinfusion fielen beide Wirkungen mehr oder minder parallel, dagegen sank in der Kalbsinfusion und in Lösungen von Labpräparaten die proteolytische langsam und gleichmäßig, die milchkoagulierende — in der Hyperbel. Diese Versuche¹⁾

¹⁾ Gegen die beschriebene Versuchsanordnung läßt sich ein wesentlicher Einwand erheben: Zur Bestimmung der Verdauungskraft wurde das Mettsche Verfahren benutzt, das eine Erwärmung im Verlaufe von 12–16 Stunden verlangt; folglich gestattet das erwähnte Verfahren im Grunde genommen überhaupt nicht, die eiweißverdauende Kraft einer gar nicht erwärmten Infusion zu bestimmen; indessen kommt einer solchen Bestimmung im gegebenen Falle eine gewisse Bedeutung zu, da die milchkoagulierende Kraft gerade in den ersten 12–24 Stunden der Erwärmung besonders stark abnimmt. Deshalb wurden zur Kontrolle gesondert Ver-

stimmen bereits nicht mehr mit der Identitätstheorie überein und bestätigen in vollem Umfange die Ergebnisse von Hammarsten, Schmidt-Nielsen und Bang. Wenn wir annehmen, daß das Pepsin an und für sich stets eine milchkoagulierende Fähigkeit besitzt, was auch von den Anhängern der Dualitätstheorie nicht geleugnet wird, und wenn wir gleichzeitig das Vorhandensein von Chymosin mit den ihm von Hammarsten zugeschriebenen Eigenschaften in der Kalbsinfusion zugeben, so erklärt sich die ganze Erscheinung sehr einfach: die von der Kalbsinfusion hervorgerufene Milchgerinnung wird durch die Wirkung zweier Fermente — des Pepsins und des Chymosins bedingt; im Verlaufe der ersten Tage der Erwärmung wird das Chymosin zerstört und es bleibt nur das Pepsin allein übrig, dessen milchkoagulierende Kraft nun parallel der proteolytischen zu fallen beginnt. In der Rinderinfusion ist kein Chymosin oder nur sehr wenig davon vorhanden und hier ist die Milchgerinnung hauptsächlich durch die Wirkung des Pepsins bedingt, weshalb beim Erwärmen beide Wirkungen fast parallel sinken.

Ist eine solche Erklärung richtig, so müssen zwei künstliche Magensäfte — Kalbs- und Rinderinfusion — von gleicher Verdauungswirkung nach der Zerstörung des Chymosins in der Kalbsinfusion, d. h. nach 2—3tägiger Erwärmung im Brutschrank, die gleiche milchkoagulierende Kraft zeigen.

XII. Infusionen n_{20} -HCl (vgl. Vers. IV):

Rinderinf. koag. 8'	verd. (16 St.) 1,0 mm	nach 45st. Erw. b. 40° C. koag. 31'
Kalbsinf. > 20''	(16 >) 1,0 >	> > > > > 24'

XIII. Infusionen (0,2% HCl).

Rinderinfus. koag. 155''	verd. (12 St.) 3,8 mm	nach 72st. Erw. koag. 11'
Kalbsinfus. > < 10''	(12 >) 4,4 >	> > > > > 9½'

XIV. Infusionen (n_{20} -HCl) durch ein Tonfilter filtriert; zur Rinderinfusion ein gleiches Volumen gekochte Kalbsinfusion zugesetzt und umgekehrt:

suche mit der Verdauung von Fibrin und Fibrinkarmin bei Zimmertemperatur angestellt. Diese Versuche haben gezeigt, daß im Laufe der ersten 12 Stunden die Verdauungskraft der Kalbsinfusion nicht im geringsten abnimmt, sondern sich mitunter sogar etwas steigert (Aktivierung).

Rinderinfus. koag.	150''	verd. (12 St.)	3,6 mm	nach 60st. Erw. koag.	7 1/2'
Kalbsinfus.	10''	(12)	3,6	»	7'

Die angeführten Beispiele bestätigen die gegebene Erklärung: das Chymosin wird im Laufe der ersten 2—3 Tage der Erwärmung zerstört; in beiden miteinander zu vergleichenden Infusionen bleiben gleiche Pepsinmengen übrig und die Koagulationszeiten nähern sich einander — es tritt eine Proportionalität beider Wirkungen auf, die vor der Erhitzung nicht bestanden hatte.

Von derselben Annahme ausgehend, kann man ferner erwarten, daß zwischen der milchkoagulierenden Wirkung der Kalbs- und Rinderinfusion die gleichen Unterschiede zur Beobachtung gelangen werden, die zwischen der Koagulation durch Chymosin und Pepsin bestehen. Nach Hammarsten liegt der Hauptunterschied darin, daß das Pepsin nur bei saurer Reaktion Milch koaguliert, während das Chymosin seine Wirkung bei neutraler und sogar bei schwach alkalischer Reaktion entfaltet. Nach den von Bang¹⁾ im Hammarstensen'schen Laboratorium angestellten Untersuchungen hat sich herausgestellt, daß die Pepsinpräparate auch bei Neutralisation Milchgerinnung hervorrufen, daß sie aber viel empfindlicher der Neutralisation gegenüber sind als das Chymosin, in hohem Grade durch CaCl_2 aktiviert werden, widerstandsfähiger gegen Erhitzung sind und in verhältnismäßig geringen Verdünnungen vom Zeitgesetz abweichen. Bang schreibt diese Eigenschaften nicht dem Pepsin selbst, sondern einem von ihm entdeckten Ferment — dem Parachymosin, zu, das seiner Meinung nach in allen käuflichen Pepsinpräparaten, sowie im Magen des Schweines und des Menschen enthalten ist. Ohne einstweilen die Frage von der Selbständigkeit des Parachymosins zu berühren, werde ich im folgenden mit diesem Namen die milchkoagulierende Wirkung des Pepsins zum Unterschiede von der des Chymosins bezeichnen.

¹⁾ l. c.

Zu den Versuchen wurden durch ein Tonfilter filtrierte Kalbs- und Rinderinfusionen ($n_{/20}$ -HCl) genommen; dieselben wurden mit $n_{/20}$ -HCl bis zu fast gleicher Koagulationszeit verdünnt, sodann zu jeder derselben ein gleiches Volumen der anderen bei 90° (bis zu völliger Vernichtung der Fermente) erhitzten Infusion hinzugesetzt, so daß die Acidität der zu vergleichenden Infusionen, sowie der Gehalt derselben an Salzen und anderen Beimengungen vollkommen gleich waren. Zu je 5 ccm Milch wurden bestimmte Mengen $n_{/10}$ -NaOH, oder $n_{/20}$ -HCl, oder CaCl_2 und sodann je 0,5 ccm saure ($n_{/20}$ -HCl) Infusion hinzugefügt.

XV. Einfluß der Neutralisation.

Milch	Saure Infusion ccm	Gerinnungszeit	
		Rinderinfus.	Kalbsinfusion
5 ccm +	0,5	36''	38''
5 „ + 0,25 ccm $n_{/10}$ -NaOH +	0,5	14,5'	3,75'
5 „ + 0,4 „ „ +	0,5	40'	5'

Der Zusatz von NaOH zur Milch *ceteris paribus* hemmt in stärkerem Maße die Koagulation durch Rinderinfusion.

XVI. Einfluß der HCl.

Zur Untersuchung der beschleunigenden Wirkung der HCl (und des CaCl_2) waren diese Infusionen nicht geeignet, da sie an und für sich zu kurze Koagulationszeiten gaben. Deshalb wurden sie verdünnt: zur Rinderinfusion wurde noch einmal ein gleiches Volumen gekochte Kalbsinfusion hinzugesetzt und umgekehrt; im zweiten Versuch wurde jede der auf solche Weise erhaltenen Lösungen noch 10mal mit $n_{/20}$ -HCl verdünnt:

Die so erhaltenen Lösungen wiesen folgende Wirkungen auf:

Rinderinfusion koag.	80''	verd. in 12 Stunden	5,5 mm
Kalbsinfusion „	75''	„ „ 12	0,25 „
Rinderinfus. 10mal verd.	19'	„ „ 12	1,4 „
Kalbsinfus. „ „ „	13'	„ „ 12	0 „

Milch	Saure Infusion ccm	Gerinnungszeit	
		Rinderinfus.	Kalbsinfusion
5 ccm +	0,5	80''	75''
5 » + 0,5 ccm n_{20} -HCl +	0,5	20''	31''
Dieselben Infusionen noch 10mal mit n_{20} -HCl verdünnt			
5 ccm +	0,5	19'	13'
5 » + 0,5 ccm n_{20} -HCl +	0,5	3'	5,5'

Die beschleunigende Wirkung der HCl ist in der Rinderinfusion schärfer ausgeprägt als in der Kalbsinfusion.

XVII. Einfluß des CaCl_2 .

Die gleichen Infusionen wie im vorhergehenden Versuch; die hinzugesetzte CaCl_2 -Menge ist in Prozenten seines Gehalts in der Milch angegeben:

Milch	Saure Infusion ccm	Gerinnungszeit	
		Rinderinfus.	Kalbsinfusion
5 ccm +	0,5	80''	75''
5 » mit 0,05% CaCl_2 +	0,5	23''	32''
5 » » 0,1% » +	0,5	12''	25''
Dieselben Lösungen noch 10mal mit n_{20} -HCl verdünnt			
5 » +	0,5	19'	13'
5 » mit 0,1% CaCl_2 +	0,5	110''	180''
5 » » 0,15% » +	0,5	55''	140''
5 » » 0,2% » +	0,5	43''	91''

Der Zusatz von 0,05—0,2% CaCl_2 zur Milch erhöht in stärkerem Maße die milchkoagulierende Wirkung der sauren (n_{20} -HCl) Rinderinfusion.

XVIII. Einfluß von CaCl_2 auf die Milchkoagulation durch mit NaOH (mit Lackmoid) neutralisierte Infusionen:

Milch	Mit n_{10} -NaOH neutralis. Infusion ccm	Gerinnungszeit	
		Rinderinfus.	Kalbsinfusion
5 ccm +	2	90'	13'
5 » mit 0,05% CaCl_2 +	2	4,5'	4,5'

Die gleiche Wirkung wie in Versuch XVII hat das CaCl_2 also auch bei der Koagulation durch neutralisierte Infusionen.

XIX. Einfluß der Verdünnung (Zeitgesetz).

Die Infusionen (XV) 2, 4 und mehrmals mit n_{20} -HCl verdünnt; Koagulation erreicht durch Zusatz von 0,5 ccm saurer Infusion zu 5 ccm Milch; folglich beständige Säuremenge, verschiedene Fermentmenge:

Milch	Saure Fermentlösung ccm	Verdünnung	Rinderinfusion		Kalbsinfusion	
			Koagulationszeit		Koagulationszeit	
			beobacht.	berechnet	beobacht.	berechnet
5 ccm +	0,5	—	31"	31	35"	35
5 » +	0,5	2 mal	50"	62	70"	70
5 » +	0,5	4 »	98"	124	123"	140
5 » +	0,5	8 »	210"	248	215"	280
5 » +	0,5	16 »	540"	496	450"	560
5 » +	0,5	32 »	1980"	992	1200"	1120
5 » +	0,5	64 »	> 10 Std.	1984	2640"	2240

Die Rinderinfusion gibt schon bei einer Verdünnung von 32mal eine merkliche Abweichung vom Zeitgesetz und versagt bei einer solchen von 64mal ganz.

XX. Der Unterschied zwischen Rinder- und Kalbsinfusion tritt noch schärfer hervor, wenn man die Ferment- und HCl-Menge gleichzeitig verringert. Zu gleichen Milchmengen (5 ccm) wurden verschiedene Mengen von sauren Infusionen hinzugesetzt, wodurch die vorerwähnte Verringerung erhalten wurde:

Milch	Saure Infusion ccm	Koagulationszeit	
		Rinderinfusion	Kalbsinfusion
5 ccm +	1	95"	110"
5 » +	0,5	12'	8'
5 » +	0,25	80'	30'
5 » +	0,16	330'	68'

Der Einfluß der Erwärmung auf die milchkoagulierende Kraft der Rinder- und Kalbsinfusion ist durch die oben aufgeführten Versuche (VIII—XI) genügend klargestellt worden.¹⁾ Somit unterscheidet sich die Rinderinfusion durch den Charakter ihrer milchkoagulierenden Wirkung beträchtlich von der Kalbsinfusion und zeigt die Eigenschaften des Parachymosins.

Wenn die Kalbsinfusion bei der Erwärmung im Brutschrank im Laufe der ersten Tage all ihr Chymosin einbüßt, während der größte Teil ihres Pepsins unverändert bleibt, so muß eine solche erwärmte Kalbsinfusion nun die Eigenschaften des Parachymosins, ähnlich wie die Rinderinfusion, besitzen. Die folgenden Versuche bestätigen diese Annahme: Kalbsinfusion (1 : 10ⁿ 20-HCl) koaguliert 5—10'', verdaut 6,6 mm. In den Brutschrank gestellt; koaguliert nach 20 Stunden 22'', nach 44 Stunden 50'', nach 60 Stunden 170'', nach 84 Stunden 5'. Ein Teil der nicht erwärmten Infusion wird mit gekochter Infusion bis zur Koagulationskraft der 84 Stunden erwärmten (5') verdünnt. Man erhält zwei Lösungen, die eine gleiche Menge Beimengungen und Säure enthalten und eine gleiche milchkoagulierende Wirkung bei Zusatz von 0,5 ccm saurer Infusion zu 5 ccm Milch besitzen.

Die Ergebnisse der Vergleichung dieser Lösungen sind auf Tabelle XXI dargestellt:

¹⁾ Die Beschreibung der Versuche mit der Erhitzung von mittels NaOH (Lackmoid) neutralisierten Infusionen auf 70° C. (nach Bang) gebe ich hier nicht und will nur bemerken, daß es mir, ebenso wie Gewin, sogar nicht gelungen ist, pepsinfreies Parachymosin aus Pepsinpräparaten (Grübler) zu erhalten, und daß diese Versuche beim Vergleich von Rinder- und Kalbsinfusionen unklare und nicht selten einander widersprechende Resultate ergaben. Eine eingehendere Besprechung dieser Versuche (in Verbindung mit den Untersuchungen von Pawlow und Parastschuk und Tichomirow bezüglich der Einwirkung von Alkalien auf das Pepsin) würde sich hauptsächlich mit der Frage von der Identität des Pepsins und Parachymosins zu befassen haben und damit über den Rahmen der gegenwärtigen Abhandlung hinausgehen.

XXI.

Milch	Saure Infusion ccm	Koagulationszeit	
		Nicht erwärmt	Erwärmt
5 ccm +	0,5	5' = 300"	5' = 300"
5 » +	1,0	55"	37"
5 » + 0,1 ccm n_{10} -NaOH +	0,5	8,5' = 510"	9,5' = 570"
5 » + 0,2 » » +	0,5	20' = 1200"	26' = 1560"
5 » mit 0,025% CaCl_2 +	0,5	65"	44"
5 » » 0,05% » +	0,5	60"	37"
5 » » 0,1% » +	0,5	48"	27"

Der gleiche Versuch mit schwächerer Infusion (1 : 50 n_{20} -HCl): koaguliert 25", verdaut 2,8 mm; nach 60stündigem Erwärmen koaguliert 46'. Nicht erwärmte Infusion mit gekochter (80mal) verdünnt, ergab Koagulation in 25'.

XXII.

Milch	Saure Infusion ccm	Koagulationszeit	
		Nicht erwärmt	Erwärmt
5 ccm +	0,5	25'	46'
5 » +	1,0	3,5'	3'
5 » + 0,5 ccm n_{20} -HCl +	0,5	12'	8'
5 » + 1,5 » » +	0,5	9'	2,5'
5 » mit 0,05% CaCl_2 +	0,5	15'	9,5'
5 » » 0,1% » +	0,5	4'	1,2'

Auf diesen 2 Tabellen (XXI u. XXII) tritt das verschiedene Verhalten der nicht erwärmten und erwärmten Infusion zur HCl, zur Neutralisation und zum CaCl_2 deutlich hervor; in der ersteren (nicht erwärmten) lassen sich die Eigenschaften des Chymosins, in der letzteren die des Parachymosins vermerken; somit bestätigt sich also noch einmal, daß in der Kalbsinfusion 2 milchkoagulierende Fermente — das Chymosin und Pepsin (Parachymosin) vorhanden sind, während in der Rinderinfusion das Pepsin (Parachymosin) allein die Hauptrolle spielt.

Die angeführten Versuche beweisen zwar die Selbständigkeit der Wirkung des Chymosins in Kalbsinfusionen, es ist jedoch möglich, daß dasselbe in Übereinstimmung mit der Hypothese von Nencki und Sieber die Seitenkette einer Riesenfermentmolekel darstellt; diese Seitenkette wird unter gewissen Bedingungen (bei Erhitzung, ebenso mit dem Alter — infolge Veränderung der Lebensweise und Ernährung) zerstört, während der übrige Teil der Molekel (Pepsin) fortfährt zu existieren.

Die von mir erhaltenen Resultate stimmen vollkommen mit den Ergebnissen von Hammarsten, Bang, Schmidt-Nielsen und Herzog¹⁾ überein. Schmidt-Nielsen verglich die proteolytische Wirkung 1—3 Tage lang erwärmter und nicht erwärmter Kalbsinfusion, die auf die gleiche milchkoagulierende Kraft gebracht worden waren, und fand, daß die erwärmte Infusion eine größere Verdauungskraft und eine größere Empfindlichkeit gegen Ansäuerung mit HCl ergab.

Herzog untersuchte die hemmende Wirkung des Ascaridensaftes (Antipepsin) auf Lab- und Pepsinpräparate und konnte in den ersten Versuchen keine hemmende Wirkung des Antipepsins auf die Milchkoagulation durch Lab vermerken, während die Koagulation durch Pepsin deutlich verzögert wurde; in einer neuen Versuchsreihe erhielt er eine schwache hemmende Wirkung auch auf die Koagulation durch Lab und gelangte zu dem Schlusse von der Identität beider Fermente. Wenn wir annehmen, daß die Koagulation durch Kalbsmageninfusionen (oder Labpräparate) von der Wirkung des Pepsins und Chymosins bedingt wird, so muß der Ascaridensaft (Antipepsin) eben gerade eine geringfügige hemmende Wirkung ausüben, entsprechend dem Pepsingehalt der Labpräparate.

Jakoby hat zu kurzdauernde (10 Min.) Erhitzungsversuche (bei 43—44° C. und bei 50—52° C.) angestellt und führt keine ausführlichen Protokolle auf.

Was die Versuche von Gewin anbelangt, der zur Gewinnung der Fermente das Pikelharingsche Verfahren benutzte, so sind dieselben, ebenso wie die Versuche der anderen

¹⁾ Herzog, Diese Zeitschrift, Bd. LX, S. 306.

Unitarier, soweit es sich um die Identität beider Wirkungen in Pepsinpräparaten (Parachymosin), die im gegebenen Falle aus Schweinemagen erhalten worden waren, handelt, durchaus überzeugend, beweisen aber nichts für das Nichtvorhandensein des Chymosins im Kalbsmagen; schon allein das 5 tägige Digerieren bei 37° C. mußte den größten Teil des in dem letzteren enthaltenen Chymosins vernichten; die hierauf zwecks Reinigung und Fällung zur Anwendung gelangende Dialyse dient, wie gleich gezeigt werden wird, unter gewissen Bedingungen als das bequemste Mittel zur Scheidung des Pepsins vom Chymosin in Kalbsinfusionen. Dessenungeachtet erhielt Gewin einen Unterschied in der Wirkung von Schweine- und Kalbspräparaten. Die Erklärungen, die er aus diesem Anlaß gibt, werden weiter unten nach der Beschreibung meiner Versuche, welche die Trennung der Fermente zum Gegenstand haben, gewürdigt werden.

III. Trennung der Fermente der Kalbsinfusion.

A. Trennung mittelst der Dialyse.

Die bis jetzt empfohlenen Methoden zur Trennung des Chymosins vom Pepsin (von Hammarsten, Glaessner,¹⁾ Schrumpf²⁾ und die verschiedenen technischen Verfahren) sind auf die Anwendung von ziemlich komplizierten chemischen Reaktionen gegründet, die nicht ohne Einfluß auf die Fermente selbst bleiben und zur Verunreinigung der erhaltenen Präparate führen; hierzu kommt noch, daß die von den Autoren erzielte Trennung im Grunde genommen erst nach Vernichtung einer der beiden Wirkungen eintrat. Pawlow und Parastschuck, Pikelharing³⁾ und andere Anhänger der Identitätstheorie haben gezeigt, daß in allen « reinen » Labpräparaten (Chymosinpräparaten), die gar keine proteolytische Wirkung zu besitzen schienen, diese stets auf die eine oder andere Weise nachgewiesen werden konnte. Aus diesem Grunde habe ich,

¹⁾ Glaessner, Hofmeisters Beitr., Bd. I, S. 1.

²⁾ Schrumpf, *Ibid.*, Bd. VI, S. 396.

³⁾ Pikelharing, Arch. des scienc. biolog. St.-Petersbourg. Bd. XI, S. 36.

als ich es unternahm, meinen Schlußfolgerungen bezüglich des Enthaltenseins von Chymosin und Pepsin in Kalbsinfusionen eine festere Grundlage zu geben, und bemüht war, diese Fermente nach Möglichkeit zu trennen, den Zusatz von chemischen Reagenzien vermieden und ausschließlich physikalische Methoden benutzt.

Die Versuche mit dem Filtrieren durch Tonfilter verschiedener Sorten gaben mir ebenso wie die Versuche einer langdauernden Zentrifugierung¹⁾ keinerlei bestimmte Resultate, und nun wandte ich mich der Dialyse zu.

Pekelharing²⁾ hat im Jahre 1896 eine Methode zur Herstellung von reinen Pepsinpräparaten empfohlen, die darauf basiert, daß bei der Dialyse von starken Mageninfusionen (vom Schwein, Hund, Kalb), die 5 Tage lang bei 37° C. mit 0,5%iger HCl digeriert worden, gegen strömendes Leitungswasser im Verlaufe von 15—20 Stunden der Schlauchinhalt sich trübt und einen aus Pepsin bestehenden Niederschlag absetzt: dieser letztere wird am besten bei 0,02% HCl erhalten und ist leicht in 0,2%iger HCl und zum Teil in H₂O löslich. Pekelharing bemerkte zufällig, daß seine Pepsinpräparate ungeachtet der 5tägigen Digestion mit 0,5%iger HCl bei 37° C. die Fähigkeit zeigten, Milch zur Gerinnung zu bringen; er hat aber für diese Erscheinung keine Erklärung gegeben.

Nencki und Sieber³⁾ haben, gestützt auf die Beobachtung von Schoumow-Simanowski, daß der auf 0° abgekühlte saure Magensaft des Hundes einen Niederschlag von reinem Pepsin bildet, folgende Modifikation des Pekelharing'schen Verfahrens ausgearbeitet: sie dialysierten natürlichen

¹⁾ van Calcar und Lobry de Bruyn gelang es, die Konzentration von Salzen durch Anwendung von langdauernder Zentrifugierung zu verändern. (Rec. de trav. chim. des Pays-Bas, Bd. XXIII, S. 218.) Nach 8—10stündigem Zentrifugieren (1400 Touren pro Minute) konnte ich bisweilen eine geringfügige Veränderung der Konzentration des Ferments feststellen, die jedoch derart unbedeutend war, daß von einer Bestimmung der Proportionalitätsstörung beider Wirkungen keine Rede sein konnte.

²⁾ Pekelharing, Diese Zeitschrift, Bd. XXXII, S. 233.

³⁾ l. c.

Magensaft vom Hunde gegen 20 Volumina destilliertes Wasser im (mit 5%iger HCl bearbeiteten) Pergamentschlauch im Laufe von 24 Stunden, füllten hierauf den getrübbten Schlauchinhalt in Zentrifugenflaschen, ließen letztere 15 Stunden bei 0° stehen und zentrifugierten. Nachdem sie sich davon überzeugt hatten, daß das auf solche Weise erhaltene Präparat — ein klebriger Niederschlag, der nach der Meinung der genannten Forscher das reine Ferment des Magensafts darstellte — neben der proteolytischen Wirkung das Vermögen besitzt, Milch zu koagulieren und Plasteine zu bilden, richteten sie ihr Augenmerk auf die Untrennbarkeit dieser 3 Funktionen des Magensafts und sprachen zur Erklärung derselben zum erstenmal in der Literatur¹⁾ in Form einer Hypothese die Theorie von der Identität der Magensaftfermente aus.

Bei der Dialyse wird nicht das gesamte Ferment gefällt: Nencki und Sieber fanden, daß bei ihrem Verfahren wenigstens $\frac{1}{5}$ (20%) des Pepsins in Lösung bleibt: Gewin untersuchte die Verteilung des eiweißverdauenden und des milchkoagulierenden Vermögens zwischen Filtrat (Lösung) und Niederschlag bei der Bearbeitung von Schweineinfusionen nach dem Pikelharingschen Verfahren und fand, daß die Proportionalität zwischen beiden Wirkungen hierbei nicht gestört wird — eine Tatsache, die als ein neues Argument zugunsten der Identitätstheorie gedient hat.

Es gelang mir, mich davon zu überzeugen, daß unter gewissen Bedingungen der Dialyse der Kalbsinfusion beide Fermente getrennt werden können. Ich machte den Versuch, das Verfahren von Nencki und Sieber auf das Fällen von Pepsin

¹⁾ Die Identitätstheorie war im wesentlichen in anderer Form um einige Monate früher von Prof. Pawlow ausgesprochen worden, worauf er in seiner diesen Gegenstand betreffenden Arbeit (vgl. Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 451—452) aufmerksam macht. Die Abhandlung von Nencki und Sieber ist der Redaktion am 1. III. 1901 zugegangen, während Pawlow am 25. I. 1901 (alt. St.) in der Diskussion zum Vortrag von Kurajeff über das Papayotin die Vermutung aussprach, daß sich alle Wirkungen des Magensafts durch nur ein Ferment erklären lassen. — Verhandl. d. Ges. russ. Ärzte zu St. Petersburg., Sitzungsprotokoll für das Jahr 1900/1901, Sitzung vom 25. I. 1901 (russisch.)

aus Kalbs- und Rindermageninfusionen anzuwenden; es wurden dabei eben solche (mit 0,2%iger oder 0,18%iger HCl) in der Kälte zubereitete Infusionen benutzt, wie in den vorhergehenden Versuchen.

XXIII. In Pergamentschläuche (von ca. 4 cm Durchmesser) wurden je 50 ccm Kalbs- und Rinderinfusion (0,2% HCl) gegossen und jeder derselben bei Zimmertemperatur (ungefähr 12—15° C.) gegen 1000 ccm destilliertes Wasser dialysiert. Es erwies sich, daß nach 24 Stunden beide Infusionen vollkommen klar geblieben waren; da wechselte ich das Wasser und setzte die Dialyse noch 24 Stunden lang fort, worauf beide Infusionen sich stark trübten und nach 15—20stündigem Stehen in schmelzendem Eise einen grauweißen Niederschlag gaben, der nach kurzdauerndem Zentrifugieren sich am Boden des Zentrifugenzyllinders absetzte, während die Flüssigkeit vollkommen durchsichtig wurde. Die Flüssigkeiten wurden dekantiert, filtriert und bis zu 0,2% HCl angesäuert (F), die Niederschläge in 0,2%iger HCl gelöst (N). Der Vergleich der milchkoagulierenden und verdauenden Kraft des Filtrats (F) und der Lösung des Niederschlags (N) ergab folgende Zahlenwerte:

		Milchkoagulierende Wirkung		Proteolytische Wirkung		
		Koagulationszeit	Relative Fermentmenge	Verdaut in 10 St. mm	Quadrat mm	Relative Fermentmenge
Rinderinfus.	Filtrat	135"	1	5,5	30,25	1
	Niederschlag	20"	6,75	11,0	121	4
Kalbsinfus.	Filtrat	35"	1	2,2	4,8	1
	Niederschlag	25"	1,4	7,5	56	11,6

In der Rinderinfusion ist die Proportionalität beider Wirkungen fast erhalten geblieben, in der Kalbsinfusion ist sie in scharf ausgeprägtem Maße gestört: bei fast gleicher milchkoagulierender Kraft ist der Pepsingehalt des Niederschlags (N) um 11 mal größer als der des Filtrats (F).

XXIV. 200 ccm Kalbsinfusion (1:5ⁿ₂₀-HCl) wurden in

gleicher Weise wie im vorhergehenden Versuch in Portionen von je 100 ccm dialysiert, der Niederschlag in $n/20$ -HCl gelöst, filtriert, von neuem dialysiert, gefällt, wieder in $n/20$ -HCl gelöst und zum drittenmal dialysiert, gefällt und in einer geringen Menge $n/20$ -HCl gelöst (N). Ein Teil dieser letzteren Lösung wurde ca. 3mal mit $n/20$ -HCl verdünnt (N_1).

Alle 3 Filtrate wurden zusammengegossen (ihre Acidität betrug ungefähr 0,01 % HCl) und bis zu $n/20$ -HCl angesäuert (F):

F (Filtrat)	koag. 30"	verdaut (12 Std.) ca. 0.1 mm
N (Niederschlag)	» 35"	» (12 ») 6.0 »
N_1 (»)	» 65"	» (12 ») 3.0 »

Fehlen der Proportionalität noch schärfer ausgeprägt als im vorhergehenden Versuch.

Um in den zu vergleichenden Lösungen die Menge der Salze und anderen Beimengungen auszugleichen, fügten wir zu dem Filtrat ein gleiches Volumen kurze Zeit gekochten Niederschlags (N_1)¹⁾ und zu N_1 ein gleiches Volumen gekochtes F hinzu:

F (+ gekocht. N_1)	koag. 55"	verdaut (24 Std.) 0—0,1 mm
N_1 (+ » F)	» 180"	» (24 ») 6.0 »

Das Fehlen der Proportionalität ist ebenso stark in die Augen springend: folglich ist eine Erklärung desselben durch den Einfluß von Salzen oder anderen Beimengungen ausgeschlossen.

XXV. Kalbsinfusion 1 : 10 $n/20$ -HCl. Die Dialyse wurde im Eisschrank (bei 8° C), im übrigen aber wie bisher ausgeführt; Acidität des Filtrats ca. 0,004 % HCl. Die Zentrifugenflasche mit dem getrübbten Schlauchinhalt wurde nicht in Eis, sondern in den Eisschrank bei einer Temperatur von ca. 8° C. gestellt. Filtrat bis zu $n/20$ -HCl angesäuert (F); Niederschlag in $n/20$ -HCl gelöst (N). F und N durch Versetzen mit $n/20$ -HCl auf die gleiche Koagulationszeit (gegen 30") gebracht; zu F ein gleiches Volumen gekochten N zugesetzt und umgekehrt:

¹⁾ Die stärkere Lösung des Niederschlags N wurde zufälligerweise ausgegossen, so daß für die übrigen Versuche die Lösung N_1 benutzt wurde.

F(+ gekocht. N) . . . koag. 55''	verdaut (18 Stunden) 0—0.1 mm
N(+ „ F) . . . „ 58''	„ (18 „) 5,0 „
Kontrollportion (nicht dialysierte Infusion) „ 10''	„ (18 „) 6,6 „

Diese Versuche beweisen, daß die Fermente (Pepsin und Chymosin) der Kalbsinfusion durch eine unter gewissen Bedingungen erfolgte Dialyse mit nachfolgender Abkühlung und Zentrifugierung getrennt werden können, wobei fast die ganze proteolytische Kraft in den Niederschlag übergeht, während ein beträchtlicher Teil der milchkoagulierenden Kraft in der Lösung (im Filtrat) bleibt.

Um eine bestimmtere Vorstellung von der quantitativen Verteilung beider Fermente zwischen Niederschlag und Filtrat zu erhalten, wurde folgender Versuch (XXVI) angestellt, in welchem der aus einem bestimmten Volumen Infusion erhaltene Niederschlag einmal in dem gleichen Volumen $n_{/20}$ -HCl und ein anderes Mal in dem gleichen Volumen bis zu $n_{/20}$ -HCl angesäuerten gekochten Filtrats gelöst wurde. In Anbetracht dessen, daß die Dialyse an und für sich die Infusion nicht nur von der HCl, sondern auch von den Salzen und anderen leicht diffundierenden Stoffen befreit, die die fermentativen Wirkungen beeinflussen können, wurden die Lösungen der oben erwähnten 2 Niederschläge sowohl mit der ursprünglichen, als auch mit der dialysierten und von neuem bis zu $n_{/20}$ -HCl angesäuerten Infusion verglichen.

XXVI. 100 ccm einer Kalbsinfusion (1 : 30 $n_{/20}$ -HCl) wurden bei 10° C. nach der angegebenen Methode gegen 20 + 20 Volumen H₂O dialysiert: nach 24+24 St. wurde die Flüssigkeit trübe bei einer Acidität von 0,004% HCl; ein Teil der dialysierten Infusion wurde bis zu $n_{/20}$ -HCl angesäuert, wonach die Flüssigkeit ganz klar wurde (2); der Rest der dialysierten Infusion wurde in 2 gleiche Portionen von je 40 ccm geteilt, letztere in 2 Zentrifugenzyylinder gegossen und nach 5stündiger Abkühlung bei 0° zentrifugiert. Die Niederschläge setzten sich als grauweiße schleimige Schicht am Boden des Zentrifugenzyinders ab. Die Flüssigkeiten wurden abgegossen, filtriert und bis auf $n_{/20}$ -HCl angesäuert (3). Der Niederschlag aus dem einen

Zylinder wurde in 40 ccm n_{20} -HCl (4), der aus dem anderen stammende in 40 ccm gekochten und abgekühlten angesäuerten Filtrats gelöst (5). Die Bestimmung der proteolytischen und milchkoagulierenden Kraft der unsprünglichen Infusion (1) und der 4 aus ihr erhaltenen Lösungen ergab die folgenden Werte:

(1) Ursprüngl. Infusion koag. < 10''	verdaut (12 Stund.)	4,1 mm
(2) Dialysierte „ „ 10''	„ (12 „)	4,0 „
(3) Filtrat 20''	„ (12 „)	0,1—0,2 „
(4) Niederschlag in n_{20} -HCl gelöst „ 32''	„ (12 „)	4,0 „
(5) Niederschlag in gekocht. Filtrat gelöst „ 30''	„ (12 „)	3,8 „

Die Vergleichung dieser Größenwerte zeigt, daß ungefähr die Hälfte des Chymosins in der Lösung (im Filtrat) zurückbleibt (Vergleich von 1 und 2 mit 3), während fast das gesamte Pepsin gefällt wird (Vergleich von 1 und 2 mit 4 und 5). Bei dieser Trennungsmethode bewahrt jedes der beiden Fermente die ihm eigene Wirkungsweise in vollem Umfange, weshalb hier nicht die Rede davon sein kann, daß die milchkoagulierende Kraft des Filtrats vom Pepsin abhängt, dessen eiweißverdauende Wirkung sich aus irgend einem Grunde nicht betätigen kann, ein Einwand, der von Pawlow und Parastschuk und anderen Unitariern gegen die Methoden von Hammarsten und Glaessner erhoben wurde.

Wenn bei einer solchen Bearbeitung der Kalbsinfusion im Filtrat das Chymosin zurückbleibt, in den Niederschlag aber das Pepsin übergeht, so müssen zwischen der milchkoagulierenden Wirkung des Filtrats und der Lösung des Niederschlags *ceteris paribus* die gleichen qualitativen Unterschiede bestehen, wie zwischen dem Chymosin und Parachymosin (Pepsin), und zwar ein verschiedenes Verhalten langdauerndem Erwärmen im Brutschrank, sowie der Neutralisation, HCl und dem CaCl_2 gegenüber.

XXVII. Einwirkung der Erwärmung im Brutschrank bei 40°C . Die Lösungen aus Versuch XXIV wurden benutzt, nur verdünnten wir N_1 der geringen vorhandenen Menge wegen noch mit n_{20} -HCl:

Dauer der Erwär- mung in Std.	Filtrat			Niederschlag				
	Milchkoagulierende Wirkung		Proteo- lytische Wirkung (Fibrin- Karmin- Ver- dauung)	Milchkoagu- lierende Wirkung		Proteolytische Wirkung		
	Koagu- lations- zeit	Relative Ferment- menge		Koagu- lations- zeit	Relative Ferment- menge	Verd. in 10 St. mm	Qua- drat mm	Relat. Fer- ment- menge
0	35''	154,0	Sehr schwach	2,5'	5,6	3,0	9,0	2,02
6	92''	59,0		5,0'	2,8	2,2	4,8	1,09
18	13' = 780''	6,9		7,5'	1,87	2,7	7,0	1,6
30	90' = 5400''	1,0		14'	1,0	2,1	4,4	1,0

Wenn wir diese Ergebnisse graphisch ausdrücken, so erhalten wir für das Filtrat eine Kurve, in der das Sinken der milchkoagulierenden Wirkung noch schärfer ausgeprägt ist als in der Kalbsinfusionskurve zu Tabelle X (Fig. 2). Umgekehrt ergibt die Lösung des Niederschlags ein schwaches Fallen dieser Wirkung, das sich der Kurve der Rinderinfusion (Fig. 1 zu Tab. VIII) nähert; ein vollkommener Parallelismus im Sinken beider Wirkungen des Niederschlags wird jedoch nicht beobachtet, was wahrscheinlich durch im letzteren zurückgebliebene Chymosinreste bedingt ist.

XXVIII. Einfluß von HCl, Neutralisation und CaCl₂. 400 ccm Kalbsinfusion (1 : 10 ⁿ/₂₀-HCl) wurden in Portionen von je 100 ccm gegen 20 Volumina destilliertes Wasser dialysiert. Nach 24 Stunden wurde das Wasser gewechselt und nach weiteren 24 Stunden die stark getrübbten Schlauchinhalte (Acidität gegen 0,005 % HCl) in Zentrifugenzyylinder gegossen; nach 12stündigem Stehen in schmelzendem Eise und Zentrifugieren erhält man vollkommen klare Flüssigkeiten über grauweißen schleimigen Niederschlägen. Dieselben wurden dekantiert, filtriert und bis zu ⁿ/₂₀-HCl angesäuert (F₁). Die Niederschläge wurden in 100 ccm ⁿ/₂₀-HCl gelöst (N₁). Beide Lösungen (F₁ und N₁) wiesen eine sehr große milchkoagulierende Kraft (10'') und keinen deutlichen Unterschied in ihrem Verhalten zu CaCl₂ und zur Neutralisation auf; das ließ sich dadurch erklären, daß dank dem großen Chymosingehalt der Infusion ein beträchtlicher Teil desselben vom Niederschlag

mitgerissen wurde und die Pepsin- (Parachymosin-) Wirkung (in N_1) maskierte. Zur Entfernung des Chymosins wurde die Lösung des Niederschlags (N_1) einer 2. Dialyse unterworfen, der nach der Fällung erhaltene Niederschlag in 50 ccm n_{20} -HCl gelöst (N_2), zum drittenmal dialysiert und der nun erhaltene Niederschlag, der sich nur noch in geringer Menge bildete, in 15 ccm n_{20} -HCl gelöst (N_3). Diese letzte Lösung zeigte jetzt beim Vergleich mit dem stark verdünnten Filtrat (F_1) deutlich die Eigenschaften des Parachymosins:

Milch	Saure Fermentlösung	F_1	N_3
5 ccm +	0,5	8'	11'
5 » mit 0,05% $CaCl_2$ +	0,5	120''	60''
5 » » 0,1% » +	0,5	64''	33''

Zum Ausgleich der Quantitäten der Beimengungen wurde F_1 mit einem gleich großen Volumen von gekochtem N_3 gemischt und umgekehrt; F_1 (+ gek. N_3) verdaut in 24 Stunden 0; N_3 (+ gek. F_1) — 4 mm.

Die Zeiten der Milchkoagulation bei Zusatz von 0,5 ccm saurer Fermentlösung zu 5 ccm Milch, zu der n_{20} -HCl, oder $CaCl_2$, oder n_{10} -NaOH hinzugefügt worden, sind auf der untenstehenden Tabelle vermerkt:

Milch	Fermentlösung ccm	Koagulationszeit	
		Filtrat (F_1)	Niederschlag (N_3)
5 ccm +	0,5	19,0'	> 35,0'
5 » +	1,0	4,5'	4,25'
5 » + 0,25 ccm n_{10} -NaOH +	0,5	98'	> 9 Std.
5 » + 0,5 » » +	1,0	39'	> 5 »
5 » + 1,0 » n_{20} -HCl +	0,5	8'	6'
5 » mit 0,2% $CaCl_2$ +	0,5	2,5' = 150''	74''
5 » » 0,25% » +	0,5	2' = 120''	1' = 60''

Der Unterschied zwischen der milchkoagulierenden Wirkung des Filtrats (F_1) und des Niederschlags (N_3) tritt vollkommen deutlich hervor, folglich ist im Filtrat Chymosin, im Niederschlag (N_3) Pepsin (resp. Parachymosin) vorhanden. Diese

Resultate widersprechen den gegen die Bangschen Untersuchungen gerichteten Erklärungen Gewins. Der letztere hat seine Versuche mit nach Pekelharing hergestellten Präparaten angestellt, d. h. er digerierte die Magenschleimhaut 5 Tage lang mit 0,5% HCl, dialysierte sodann gegen strömendes Leitungswasser und untersuchte die erhaltenen Niederschläge. Ungeachtet einer solchen Bearbeitung blieb ein Teil des Chymosins offenbar unzerstört, weil die Präparate von Kalbsmagen im Vergleich mit denen von Schweinemagen immerhin einen qualitativen Unterschied in der milchkoagulierenden Wirkung aufweisen. Gewin richtete sein Augenmerk auf das Vorhandensein einer schleimigen Substanz in der Kalbsinfusion, die bei der Dialyse zusammen mit dem Ferment gefällt wurde. Diese Substanz schützt nach Gewins Meinung das Ferment gegen die Wirkung von Alkalien und verleiht überhaupt vom Standpunkt der Identitätstheorie dem Pepsin des Kalbsmagens den Charakter des Chymosins. In meinen Versuchen befand sich, worauf ich wiederholt hingewiesen habe, die schleimige Substanz gerade im Niederschlag, der dessenungeachtet die Eigenschaften des Parachymosins aufwies, während die nach Ausscheidung des Niederschlags erhaltene Lösung (Filtrat) die des Chymosins zeigte, so daß die Gewinsche Erklärung hierdurch widerlegt wird.

Bei dem von mir benutzten Verfahren erhält man im Grunde genommen eine unvollständige Trennung der Fermente; der Niederschlag enthält noch eine beträchtliche Menge Chymosin; obwohl das Filtrat gekochtes Hühnereiweiß nicht verdaut, so besitzt es immerhin eine schwache proteolytische Wirkung, die stets mit Hilfe von Fibrin oder Fibrinkarmin nachgewiesen werden kann. Durch wiederholtes Bearbeiten des Niederschlags nach derselben Methode läßt sich augenscheinlich vollkommen chymosinfreies Pepsin erhalten. Was nun das Filtrat anlangt, so ist es mir bis jetzt nicht gelungen, aufzuklären, ob seine proteolytische Wirkung eine untrennbare Eigenschaft des Chymosins ausmacht, oder ob sie von in der Lösung zurückgebliebenen Pepsinresten herrührt. Ich stelle gegenwärtig Versuche in dieser Richtung an.

Das Gelingen des Versuchs, d. h. eine mehr oder minder vollständige Trennung der Fermente hängt von der Beobachtung verschiedener geringfügiger Bedingungen ab, unter denen es mir gelungen ist, die folgenden zu vermerken:

1. Bei der Dialyse starker Infusionen (1 : 10 — 1 : 30) erfolgt die vollständigste Fällung des Pepsins und die Filtrate zeigen bei großer milchkoagulierender Kraft eine sehr schwache proteolytische Wirkung; dagegen enthält der Niederschlag neben dem Pepsin beträchtliche Chymosinmengen; aus schwächeren Infusionen fällt reineres Pepsin aus, seine Fällung ist jedoch weniger vollständig und ein bedeutender Teil desselben wird in der Lösung (Filtrat) festgehalten.

2. Die beste Temperatur für die Dialyse ist 8—12° C. (Eisschrank): bei höheren Temperaturen wird im Filtrat mehr Pepsin festgehalten.

3. Die Verwendung des Toluols ist nicht günstig, da dasselbe bisweilen den Flocken des ausfallenden Niederschlags anhaftet, die, anstatt sich am Boden abzusetzen, an die Oberfläche kommen; bei der Dialyse benutzt man besser Thymol.

4. Die Fällung des Niederschlags erfolgt bei einem Gehalt von 0,01% HCl und weniger, am besten aber bei 0,005 bis 0,004% HCl.

5. Für die Vollständigkeit der Fällung ist, wie es scheint, der Wechsel des Wassers von wesentlicher Bedeutung: die Dialyse gegen 40 Volumina destilliertes Wasser im Laufe von 1, 2 und mehr Tagen ergibt viel schlechtere Resultate als die Dialyse gegen 20 Volumina Wasser, das nach 24 Stunden gewechselt wird.

6. Bei der Dialyse gegen fließendes gewöhnliches Wasserleitungswasser gelingt die Trennung der Fermente nicht.

7. Die Dialyse von 3 Tage bei 40° C. erwärmter Infusion ergab keine Trennung.

Das beschriebene Verfahren unterscheidet sich von dem ihm am nächsten stehenden von Nencki und Sieber durch folgende Eigentümlichkeiten:

a) Die vollständigste Pepsinfällung erfolgt bei 0,01—0,005% HCl und nicht bei 0,02% HCl, wie das die genannten Autoren

am Magensaft des Hundes und Pikelharing an digerierten Mageninfusionen von verschiedenen Tieren¹⁾ beobachtet haben.

b) Der Niederschlag hat einen deutlichen Schleimcharakter.

c) Das Pepsin wird vollkommen oder fast vollkommen (so z. B. in Vers. XXVI) gefällt, während bei Nencki und Sieber nicht mehr als $\frac{4}{5}$ des gesamten Pepsins gefällt wurden.

Diese Besonderheiten können mit großer Wahrscheinlichkeit dadurch erklärt werden, daß in der Infusion Mucin enthalten ist, das bei 0,18% HCl in Lösung bleibt und bei der Dialyse infolge der verringerten Acidität und der Abnahme der Salzmengen aus derselben gefällt wird;²⁾ die Fällungen von Mucin reißen die Pepsinreste und einen Teil des Chymosins mit und verleihen dem Niederschlag den erwähnten schleimigen Charakter. Unmittelbar durch den Versuch wurde gezeigt, daß die Lösung des Niederschlags in verdünnter NaOH durch Essigsäure getrübt wird, und daß sich diese Trübung im Überschuß derselben nicht löst.

Trennung des Pepsins und Chymosins in käuflichen Labpräparaten.

XXIX. Labpulver Grübler. 1%ige Lösung in n_{20} -HCl koaguliert in 30", verdaut (12 Stunden) 2,0 mm.

Nach Dialyse und Fällung:

Filtrat koagul. 50—45", verdaut (12 Std.) 0 mm

Niederschlag (in $\frac{1}{3}$ des gekochten Filtrats gelöst)

koagul. 65—80", (12 >) 5.0 >

XXX. Labpulver Kahlbaum. 1%ige Lösung in n_{20} -HCl.

Nach Dialyse und Fällung:

Filtrat koagul. 175"

Niederschlag in n_{20} -HCl gelöst . . . 178"

¹⁾ Zum Vergleich habe ich einen Versuch mit dem natürlichen Magensaft von Hunden unternommen. Bereits nach 24stündiger Dialyse gegen 20 Volumina destilliertes Wasser erhielt man eine reichliche Trübung, die nach Abkühlung und Zentrifugierung einen Niederschlag ergab. Der Vergleich des Filtrats mit der Lösung des Niederschlags zeigte, daß bei der Dialyse des Hundemagensafte die proteolytische und milchkoagulierende Wirkung proportional zwischen Filtrat und Niederschlag verteilt waren.

²⁾ Die Gewinnung des Mucins aus den Submaxillardrüsen nach dem Verfahren von Hammarsten (Diese Zeitschrift, Bd. XII, S. 177 u. ff.) erfolgt unter sehr ähnlichen Bedingungen.

Filtrat + gekochter Niederschlag . koagul. 5', verdaut (12 Std.) 0 mm
 Niederschlag + gekochtes Filtrat . 5', (12) 1.0 ,
 In beiden Fällen erhielt man eine deutliche Trennung.

B. Trennung durch Extrahierung mit HCl von verschiedener Konzentration.

Die oben beschriebenen Versuche mit der Trennung des Pepsins und Chymosins vermittelt der Dialyse haben gezeigt, daß sich das Pepsin vom Chymosin durch eine geringere Lösbarkeit in sehr schwacher HCl unterscheidet: daher war zu erwarten, daß die Trennung auch unter anderen Bedingungen gelingen würde, so z. B. bei der Neutralisation saurer Infusionen, bei entsprechender Ansäuerung neutraler Infusionen und bei Extrahierung der Schleimhaut in der Kälte mit sehr schwacher HCl. Die Mehrzahl der in dieser Richtung angestellten Versuche ergab negative Resultate mit Ausnahme der letztgenannten Modifikation, bei der eine vollkommen bestimmte Störung der Proportionalität beider Wirkungen erhalten wurde.

XXXI. 20 g abgeschabte Kalbsmagenschleimhaut wurden in der Reibschale mit 20 ccm n_{20} -HCl gemengt und in 2 gleiche Portionen A und B geteilt. Zu A wurden 90 ccm destilliertes Wasser, zu B 90 ccm n_{20} -HCl hinzugefügt und folglich Infusionen mit n_{200} (A) und n_{20} -HCl (B) erhalten. Beide Portionen wurden in den Eisschrank gestellt, nach 24 Stunden filtriert, A bis zu n_{20} -HCl angesäuert, beide Portionen durch Verdünnung mit n_{20} -HCl auf die gleiche Milchkoagulationszeit gebracht, zu A ein gleiches Volumen von gekochtem B hinzugesetzt und umgekehrt.

A (n_{200}) + gekocht. B koag. 62''	verdaut (20 Stunden) < 1,0 mm
B (n_{20}) + " A " 65''	" (20 ") 2.5 "

XXXII. 30 g abgeschabte Kalbsmagenschleimhaut wurden mit 30 ccm n_{20} -HCl gemischt, 270 ccm Wasser hinzugesetzt und das Gemisch bei 8° C. stehen gelassen. Nach 24 Stunden wurde die Infusion filtriert, das Filtrat bis zu n_{20} -HCl angesäuert (A). Der Filterrückstand (d. h. die bereits mit n_{200} -HCl extrahierte Schleimhaut) wurde nun nochmals mit 300 ccm n_{20} -HCl extrahiert und nach 24 Stunden filtriert (B). Beide

Infusionen wurden durch Verdünnung mit n_{20} -HCl auf die gleiche milchkoagulierende Kraft gebracht.

A + gekocht. B koag. 105"	verdaut (20 Stunden) 0 mm
B + „ A „ 105"	„ (20 „) 1 „

Diese beiden Versuche zeigen, daß beim Extrahieren mit n_{200} -HCl hauptsächlich Chymosin in Lösung geht, während beim Extrahieren mit n_{20} -HCl beide Fermente in die Infusion übergehen. Analoge, jedoch weniger scharf ausgeprägte Resultate ergibt die Extrahierung zuerst mit Wasser und dann mit n_{20} -HCl.

Ähnliche Versuche wurden mit Labpräparaten angestellt.

XXXIII. 1,0 g Kahlbaumsches Labpulver wurde $\frac{1}{2}$ Stunde bei 10° C. mit 50 ccm Wasser extrahiert, filtriert und bis zu n_{20} -HCl (A) angesäuert; der Rückstand mit 50 ccm n_{20} -HCl während $\frac{1}{2}$ Stunde extrahiert und filtriert (B); A wurde mit n_{20} -HCl verdünnt.

A + gekocht. B koagul. 95"	verdaut (14 Stunden) 1,0 mm
B + „ A „ 420"	„ (14 „) 1,8 „

XXXIV. 2 Lösungen von Grüblerschem Labpulver in n_{200} -HCl (A) und in n_{20} -HCl (B):

A + gekocht. B koagul. 50"	verdaut (30 Stunden) 4,0 mm
B + „ A „ 210"	„ (30 „) 8,0 „

In beiden Fällen erhielt man eine deutliche Trennung.

IV. Versuche an natürlichem Kalbsmagensaft.

Die zuvorkommende Liebenswürdigkeit und langjährige Erfahrung meines geehrten Kollegen, des Herrn Privatdozenten I. Belgowski, ermöglichten es mir, meine Versuche am natürlichen Magensaft eines von ihm operierten Kalbes nachzuprüfen.

Die Operation, die in der Bildung eines isolierten kleinen Magens nach Pawlow bestand, wurde am 19./XII. 1909 an einem 9tägigen Kalbe ausgeführt. Das Kalb lebte 3 Monate im Laboratorium; die Sektion zeigte, daß der kleine Magen (Länge 7 cm, Querdurchmesser 2,25 cm) aus dem Fundusteil des Abomasus herausgeschnitten war. Die Schleimhaut des letzteren und die des kleinen Magens sind dem Aussehen nach völlig gleichartig und gaben gleichwirkende Infusionen; die Sondenuntersuchung und die Probe mit dem Wassereinlauf zeigten, daß zwischen Abomasus und kleinem Magen keine Verbindung bestand. Über die Einzelheiten der Operation,

die, soweit mir bekannt, am Kalbe zum erstenmal ausgeführt wurde, ebenso wie über die Beobachtungen des Ganges der Magenverdauung bei einem Wiederkäuer, wird Herr Privatdozent Belgowski seinerzeit selbst Mitteilung machen, ich aber will mich mit der Darlegung der von mir mit dem Magensaft dieses Kalbes angestellten Versuche, die unmittelbar auf die Frage vom Enthaltensein von Chymosin im Kalbsmagen Bezug haben, begnügen.

Am 5. Tage nach der Operation Milchnahrung. Es wurden mehrere Kubikzentimeter trübe neutrale Flüssigkeit erhalten, die nach dem Ansäuern proteolytische und milchkoagulierende Wirkung zeigte.

Am 6. Tage gelang es, 10—15 ccm klaren, in geringer Anzahl bräunliche Flocken enthaltenden, sauren Saft zu sammeln. Günzburgsche Reaktion positiv. Freie HCl 30¹⁾ (= 0,11%), Gesamtacidität 40¹⁾. 1 ccm Saft koaguliert 10 ccm Milch bei 40° C. in 28—30“.

Beginnend mit dem 7. Tage wurde der Saft nach der Milchfütterung gesammelt und im Laufe des Tages konnte man bis zu 50—100 ccm davon erhalten; die Säuremenge nahm im Laufe des ersten Monats zu. Die freie HCl schwankte von 40—85 und (1mal) sogar bis 108, die Gesamtacidität von 50—95 und 113. Deutliche Veränderungen der proteolytischen und milchkoagulierenden Kraft konnten während der Beobachtungszeit (1 Monat) nicht vermerkt werden.

XXXV. Einfluß der Erwärmung im Brutschrank. Der am 8. Tage nach der Operation gesammelte Saft hatte eine Gesamtacidität von 50; freie HCl 40; 10 ccm Milch bei 40° C. werden koaguliert: von 1 ccm sauren Saftes in 26“, von 1 ccm mit NaOH neutralisierten Saftes in 105“, von 1 ccm mit CaCO₃ neutralisierten Saftes in 35“.

¹⁾ Als Indikator für die Bestimmung der freien HCl diente in der Regel Dimethylamidoazobenzol, mitunter das Günzburgsche Reagens, zur Bestimmung der Gesamtacidität Phenolphthalein. Die Acidität ist überall durch die Anzahl von Kubikzentimetern $\frac{n}{10}$ -NaOH ausgedrückt, die zur Neutralisation von 100 ccm Saft nötig sind; zur Berechnung des HCl-Prozents ist der erhaltene Aciditätswert mit 0,00365 zu multiplizieren.

Erwärmt 0 Stunden koag. 26''	verdaut in 12 Stunden 3,0 mm
» 24 » » 80''	» » 12 » 3,0 »
» 48 » » 185''	» » 12 » 3,0 »

In Anbetracht dessen, daß bei der Verdauung nicht scharf ausgeprägte Eiweißgrenzen im Mettschen Röhrchen erhalten wurden, konnte man an die Gegenwart von hemmenden Substanzen im Saft denken; deshalb wurde der Versuch mit demselben Saft in 5facher Verdünnung mit $n/20$ -HCl wiederholt.

Erwärmt 0 Stunden koag. 90''	verdaut (12 Stunden) 2,0 mm
» 24 » » 180''	» (12 ») 2,0 »
» 48 » » 480''	» (12 ») 1,6 »
» 60 » » 1080''	« (12 ») 1,4 »

Bei der Erwärmung wurden die gleichen Resultate erhalten wie für die Kalbsmageninfusion — rasches Sinken der milchkoagulierenden Kraft bei verhältnismäßig langsamem Fallen der eiweißverdauenden. Ebensolche Versuche mit den gleichen Resultaten wurden mehreremal mit Säften wiederholt, die 2 und 3 Wochen nach der Operation erhalten wurden. Bei der graphischen Darstellung der Ergebnisse erhielt ich Kurven, die denen ähnlich waren, die für die Kalbsinfusionen erhalten worden waren, obwohl das Sinken der milchkoagulierenden Kraft im natürlichen Saft weniger scharf ausgeprägt war.

Versuche mit der Trennung der Fermente durch die Dialyse.

XXXVI. Der gleiche Saft wie in Versuch XXXV; 40 ccm wurden nach der beschriebenen Methode bei 12—15° C. dialysiert:

Filtrat koag. 47—41''	verdaut (12 Stunden) 0,1 mm
Niederschlag » 50—47''	» (12 ») 3,5 »

XXXVII. Ein anderer Saft (Gemisch von Säften einiger Tage):

Filtrat koagul. 90''	verdaut (12 Stunden) 2,0 mm
Niederschlag » 90''	» (12 ») 5,5 »

XXXVIII. Saft von einigen Tagen. Gesamtacidität 50:

Magensaft koag. 30''	verdaut (12 Stunden) 2,0 mm
» dialys. u. anges. » 36''	» (12 ») 7,0 »
Filtrat » 90''	» (12 ») 2,0 »
Niederschlag in gek. Filtrat gel. » 80''	» (12 ») 6,0 »

XXXIX. Einfluß von HCl, NaOH, CaCl₂. Saft von einigen Tagen (19.—21. I.). Gesamtacidität 64 (0,2% HCl); nach der Dialyse Acidität 0,006% HCl. Filtrat und Lösung des Niederschlags mit n_{20} -HCl verdünnt:

Filtrat koag. 165'', Niederschlag koag. 180''.

Gemische hergestellt: Filtrat + gleiches Volumen gekochter Niederschlag (verd. in 14 St. ca. 0,5 mm) und umgekehrt: Niederschlagslösung mit gekochtem Filtrat (verd. in 14 St. 3,6 mm); die erhaltenen Lösungen hinsichtlich des Einflusses von HCl, Neutralisation und CaCl₂ untersucht:

Milch	Fermentlösung ccm	Koagulationszeit	
		Filtrat	Niederschlag
5 ccm +	0,5	5,5'	8'
5 > + 0,5 ccm n_{20} -HCl +	0,5	110''	78''
5 > + 0,2 > n_{10} -NaOH +	0,5	12'	> 60'
5 > mit 0,05% CaCl ₂ . . +	0,5	100''	60''
5 > > 0,1% > . . +	0,5	65''	41''
5 > > 0,15% > . . +	0,5	40''	20''

Das Filtrat zeigt die Eigenschaften des Chymosins, der Niederschlag die des Pepsins (Parachymosins). Somit ist es uns gelungen, die an den Infusionen erhaltenen Ergebnisse am natürlichen Magensaft zu bestätigen, und zwar zeigte sich, daß bei Erwärmung im Brutschrank das Chymosin früher zerstört wird als das Pepsin und daß beide Fermente mit Hilfe der Dialyse getrennt werden können.

Schließlich möchte ich hier noch die Schlußfolgerungen von van Dam¹⁾ berücksichtigen, dessen letzte Arbeit zu einer Zeit erschien, als die meinige fast schon beendet war. In dieser Arbeit tritt van Dam als Anhänger der Identitätstheorie auf. Gleich den anderen Unitariern identifiziert er die milchkoagulierende Wirkung des Schweinsenzym mit der der Kalbsmageninfusion, — d. h. er indentifiziert von unserem Standpunkt aus das Parachymosin mit dem Chymosin — und stützt seine Hauptbeweise auf Versuche mit Schweinsenzym. Auf Grund der oben-

¹⁾ van Dam, Diese Zeitschrift, Bd. LXIV, S. 316.

erwähnten Erwägungen sind nun aber an erwachsenen Tieren angestellte Versuche in der Frage von der selbständigen Existenz des Chymosins nicht als beweiskräftig zu betrachten, weshalb ich hier nur diejenigen Versuche des genannten Forschers besprechen werde, die die Kalbsinfusion betreffen.

van Dam fand, daß sich in der Kalbsinfusion die Fähigkeit, Paracaseinkalk bei fast neutraler Reaktion (Methodik nach van Dam¹⁾) zu verdauen, parallel ihrer milchkoagulierenden Fähigkeit ändert. Diese Tatsache, die unsere Kenntnis der Eigenschaften des Chymosins erweitert, widerspricht nicht im geringsten der dualistischen Anschauung: wenn das Chymosin imstande ist, spezifisch auf das Casein einzuwirken und es zur Gerinnung zu bringen, so ist es nicht unmöglich, daß diese spezifische Wirkung nicht auf das Stadium der Paracaseinbildung beschränkt bleibt, sondern weitergeht.

Er hat ferner gezeigt, daß, wenn man die Gerinnungsversuche nicht bei Körpertemperatur, sondern bei 25° C. und weniger anstellt, sich der Unterschied zwischen der milchkoagulierenden Kraft der im Brutschrank erwärmten und der der nicht erwärmten Kalbsinfusion als geringer erweist, so daß bei dieser Bedingung (25° C.) bis zu einem gewissen Grade ein Parallelismus zwischen milchkoagulierender und proteolytischer Wirkung in die Erscheinung treten kann, dessen Ausfall in den bei Körpertemperatur angestellten Versuchen scharf in die Augen springt. Die gleiche Einwirkung der Gerinnungstemperatur habe auch ich in meinen (in der gegenwärtigen Arbeit nicht aufgeführten) Versuchen beobachtet, z. B.:

Kalbsinfusion	koag. bei 40° in 10''	bei 25° in 2'	verd. 5 mm
» 24 Std. erwärmt	» 40° » 30''	» 25° » 5'	» 4,4 »
» 60 » »	» 40° » 120''	» 25° » 7'	» 3,2 »
Natürl. Kalbsmagensaft (Acid. 80)	koag. bei 40° in 25''	bei 25° in 4,5'	
» 72 Std. erwärmt	» 40° » 360''	» 25° » 7,5'	

In der Kalbsinfusion erweist sich die milchkoagulierende Kraft bei 40° um 12mal vermindert, bei 25° um 3,5 mal: im Kalbsmagensaft bei 40° um 14 mal, bei 25° um weniger als 2 mal. Wenn wir die Resultate dieser Versuche gra-

¹⁾ van Dam, Diese Zeitschrift, Bd. LXI, S. 147.

phisch wiedergeben wollten (vgl. Fig. 1 und 2), so ergäbe sich, daß die bei 40° erhaltene Gerinnungskurve sich bei 25° strecken und der Kurve der proteolytischen Wirkung nähern würde.

Diese Erscheinung beweist durchaus nicht die Identität des Pepsins und Chymosins, sie betont im Gegenteil noch einmal die verschiedenen Eigenschaften dieser Fermente.

Das Pepsin unterscheidet sich, wie bereits bemerkt worden (Vers. XIX), unter anderem dadurch vom Chymosin, daß es bei verhältnismäßig geringfügigen Verdünnungen vom Zeitgesetz abweicht: es folgt aber, was schon vor 2 Jahren Gerber¹⁾ gezeigt hat und jetzt von van Dam bestätigt wird, diesem Gesetz in größerer Annäherung, wenn man die Gerinnungsversuche bei einer Temperatur von weniger als 30° C. ausführt. Daher kann das Pepsin der Kalbsinfusion, in der es in geringer Menge enthalten zu sein pflegt, nach Zerstörung des Chymosins seine milchkoagulierende Wirkung besser bei 25° entfalten, als bei 40°, und die milchkoagulierende Kraft der erwärmten Portionen wird verhältnismäßig erhöht. Eine analoge Erscheinung erhält man, wenn man die die milchkoagulierende Wirkung des Pepsins beschleunigenden Bedingungen auf anderem Wege, indem man z. B. der Milch CaCl₂ zusetzt, schafft, den Versuch aber bei 40° durchführt:

1. Kalbsinfusion . . . koag. in 10''	Milch mit 0,15% CaCl ₂ — momentan
2. > 24 St. erw. » » 30''	> 0,15% » 8''
3. > 48 » » » 250''	> 0,15% » 15''

Die milchkoagulierende Kraft der 3. Portion ist ohne Zusatz von CaCl₂ 8 mal und bei Zusatz desselben nur 2 mal geringer als die der 2. Portion.

Ein anderer Grund der Streckung der Gerinnungskurve liegt, wie es scheint, in der größeren Empfindlichkeit des Chymosins der Herabsetzung der Gerinnungstemperatur gegenüber:

Kalbsinfusion koag. bei 40° in 4'	bei 28° in 12'
Rinderinfusion » » 40° » 8'	» 28° » 17,5'

Beim Herabsetzen der Temperatur von 40° auf 28° koaguliert die Kalbsinfusion (Chymosin) um 3 mal, die Rinderinfusion um 2 mal langsamer. Der gleiche Unterschied im Ver-

¹⁾ Gerber, C. R. soc. biol., Bd. LXIII, 1907, S. 575.

halten zur Gerinnungstemperatur ergab sich auch zwischen Filtrat (Chymosin) und Niederschlag, die in einem der Versuche mit der Dialyse von Kalbsinfusion erhalten worden:

Filtrat	(ⁿ 20-HCl)	koag. bei 45° in 55"	bei 40° in 65"	bei 26° in 25'
Niederschlag	(>)	> 45° > 55"	> 40° > 67"	> 26° > 11'

Somit werden in den bei einer Temperatur von weniger als 30° angestellten Koagulationsversuchen einerseits günstige Bedingungen für die Pepsinwirkung, anderseits für die Chymosinwirkung¹⁾ ungünstige geschaffen, weshalb die Koagulationskurve, die in ihrem Anfangsteil hauptsächlich die Chymosinwirkung, in ihrem Endteil die des Pepsins zum Ausdruck bringt, sich streckt und eine der Kurve der proteolytischen Wirkung mehr parallele Lage einnimmt. Umgekehrt werden in den bei einer Temperatur von 40° angestellten Versuchen günstigere Bedingungen für die Chymosin- und weniger günstige für die Pepsinwirkung geschaffen, so daß die erstere schärfer hervortritt.

Schlußfolgerungen.

Die Identitätstheorie, welche die von den Verdauungssäften von Hund und Mensch, den Mageninfusionen verschiedener erwachsener Säugetiere und anderer Tiere und in meinen Versuchen — von Rindermageninfusionen hervorgerufenen Koagulationserscheinungen in zufriedenstellender Weise erklärt, erweist sich jedoch als unzulänglich, wenn es sich um den Magensaft von Kälbern handelt.

Man ist gezwungen zuzugeben, daß im Kalbsmagen außer dem stets eine milchkoagulierende Wirkung entfaltenden Pepsin Chymosin vorhanden ist, dem diejenigen Eigenschaften zukommen, die ihm von Hammarsten und den anderen Dualisten zugeschrieben werden. Die vom künstlichen oder natürlichen Kalbsmagensaft bewirkte Milchkoagulation ist

¹⁾ Offenbar wird bei einer Temperatur von weniger als 30° nicht der Prozeß der fermentativen Wirkung des Chymosins selbst, sondern die Gerinnelbildung gehemmt, weshalb bei der Morgenrot-Fuldschen Methode (Vers. XI. Kolonne 3), wo die Bildung der Gerinnel bei 40° erfolgt, die hemmende Wirkung der niedrigen Temperatur nicht beobachtet wird. (Vgl. Fuld, Hofmeisters Beitr., Bd. II. S. 169.)

als eine komplizierte Erscheinung, als die Summe der Wirkungen beider Fermente — des Pepsins und des Chymosins anzusehen: deshalb führt die Beseitigung des einen von diesen Fermenten nicht zu völliger Vernichtung der milchkoagulierenden Kraft, sondern nur zu der entsprechenden Verringerung derselben.

Durch Erwärmen von saurem (0,18 — 0,2% HCl) künstlichem oder natürlichem Kalbsmagensaft im Brutschrank bei 40° C. kann das Chymosin im Laufe von 2—4 Tagen zerstört werden, während der größte Teil des Pepsins mit der ihm eigenen milchkoagulierenden Wirkung diesen Prozeß überdauert: daher erfolgt bei der Erwärmung während der ersten Tage ein stark ausgeprägtes Sinken der milchkoagulierenden Kraft, nicht aber deren völlige Vernichtung.

Mit dem Alter des Tieres verschwindet das Chymosin und die Milchkoagulation durch Rindermageninfusionen ist offenbar nur durch die Wirkung des Pepsins allein bedingt.

Vermittelst der Dialyse gegen 20 + 20 Volumina destilliertes Wasser im Laufe von 24 + 24 Stunden mit nachfolgender Abkühlung bis auf 0° und Zentrifugierung (unter Beobachtung der in Vers. XXIII und weiter angegebenen Bedingungen) können beide Fermente des künstlichen und natürlichen Kalbsmagensafts getrennt werden, ohne daß eine Störung ihrer Funktionen eintritt: sämtliches oder fast sämtliches Pepsin wird gefällt, während ein beträchtlicher Teil des Chymosins in Lösung bleibt. (Vers. XXVI.)

Die Trennung der Fermente des Kalbsmagens läßt sich auch teilweise durch Extrahierung der Schleimhaut zuerst mit Wasser oder sehr schwacher ($n/200$)-HCl (Chymosin), sodann mit stärkerer ($n/20$)-HCl (Pepsin und das noch zurückgebliebene Chymosin) erreichen.

In den käuflichen Labpräparaten (Grübler und Kahlbaum) sind gleichfalls Pepsin und Chymosin enthalten, die durch beide Verfahren trennbar sind.

Zwischen der milchkoagulierenden Wirkung der Kalbs- und Rinderinfusion besteht nicht nur ein quantitativer, sondern auch ein qualitativer Unterschied: dieser letztere kommt in einem verschiedenen Verhalten zu HCl, Neutralisation und CaCl₂ zum Ausdruck und ist dem von Bang beschriebenen Unterschied zwischen dem Chymosin der Kalbsinfusion und dem Parachymosin der Schweinemageninfusion und des menschlichen Magensafts völlig analog. Die gleichen qualitativen Unterschiede lassen sich auch an den aus Kalbsmagensaft (vermittelt der beschriebenen Methoden) gesondert erhaltenen Fermenten (Pepsin und Chymosin) feststellen. Dieses verschiedene Verhalten zu HCl, NaOH und CaCl₂ läßt sich nicht durch die Anwesenheit von Beimengungen oder überhaupt durch die Versuchsbedingungen erklären, sondern ist offenbar in der Natur der Fermente selbst begründet.

Analoge Versuche, die von mir nach demselben Plane an den Magenfermenten verschiedener anderer Tiere ausgeführt wurden, sind noch nicht veröffentlicht. Auf Grund der bis hierzu erhaltenen Ergebnisse kann ich bereits schließen, daß ein seinen Eigenschaften nach mit dem Chymosin des Kalbsmagens identisches oder demselben äußerst nahestehendes milchkoagulierendes Ferment in den Magen nicht nur von neugeborenen Wiederkäuern — Schaf und Ziege —, sondern auch von neugeborenen Pferden und Schweinen enthalten ist. Hingegen ist es mir bis jetzt nicht gelungen, bei den erwachsenen Säugetieren — sowohl der erwähnten Tierarten als auch anderer —, wie auch bei anderen Wirbel- und wirbellosen Tieren irgend welche Anzeichen für das Vorhandensein eines selbständigen milchkoagulierenden Ferments nachzuweisen. Ein solches Resultat erscheint auch vom biologischen Standpunkt als das am meisten annehmbare: laut der Identitätstheorie ist die proteolytische Wirkung untrennbar mit der milchkoagulierenden verbunden; deshalb gelangt bei allen Pep-

sin produzierenden Tieren auch eine milchkoagulierende Wirkung, die hier eine zufällige Begleiterscheinung darstellt, zur Beobachtung: von jungen, sich ausschließlich mit Milch nährenden Säugetieren wird jedoch ein spezielles milchkoagulierendes Ferment produziert, das mit dem zunehmenden Alter verschwindet.

Was nun die Frage von der selbständigen Existenz des anderen Labferments — des Parachymosins Bang — anbelangt, so habe ich dieselbe in meinen Untersuchungen nicht berührt. Es steht zu erwarten, daß diese Frage in verneinendem Sinne entschieden werden wird — dafür sprechen sowohl das bereits vorhandene umfangreiche experimentelle Material, als auch allgemeinbiologische Erwägungen; somit wird sich die Theorie der Identität des Pepsins und Chymosins in eine Theorie der Identität des Pepsins und Parachymosins verwandeln.

Kiew, 10. 23. VII. 1910.