

Notiz zur Pepsin-Chymosinfrage.

Von

J. F. B. van Hasselt.

(Der Redaktion zugegangen am 8. November 1910.)

In einer kürzlich erschienenen, sehr interessanten Arbeit ¹⁾ kam W. van Dam zum Schluß, daß kein Grund mehr vorliege, zwischen proteolytischem und koagulierendem Enzym im Magensaft zu unterscheiden. Chymosin und Pepsin seien identisch; nur den äußeren Umständen zufolge trete bald die eine, bald die andere Wirkung in den Vordergrund.

Ich möchte mir aber erlauben, einige Beobachtungen bekannt zu geben, welche sich nach meiner Ansicht nicht gut mit dieser Auffassung vereinigen lassen.

Einer der bemerkenswertesten Befunde van Dams war die Tatsache, daß gereinigte Enzymlösungen (im besonderen Schweinemagenenzym) auf ganz hervorragende Weise von den Hydroxylionen der Milch geschädigt werden, so daß die bei Bruttemperatur gefundenen Gerinnungszeiten kein Maß für das koagulierende Enzym sind. Diesem Befunde kann ich durchaus beipflichten: 4 ccm eines solchen Labs brachten eine bestimmte Menge Milch bei 37° in 140 Sekunden zum Gerinnen; 2 ccm hatten überhaupt keine Wirkung mehr.

Beim Arbeiten mit durch Salzsäure angesäuerter Milch kann man aber verlässliche Zahlen bekommen.

Die benötigte Menge Säure wurde, da die mir zu Gebote stehende Milch der hiesigen Zentrale oft erhebliche Schwankungen im Labwerte zeigte, jedesmal festgestellt. Im allgemeinen war ein Zusatz von 2 ccm n-HCl pro 100 ccm Milch nötig (15 ccm wurden von 1 Tropfen Handelslab, Verdünnung

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

1 : 20 in etwa 1 $\frac{1}{2}$ Minute zur Gerinnung gebracht). Mit diesem Säurezusatz war offenbar der neutrale Punkt erreicht, denn selbst bei sehr geringer Vermehrung des Säuregehaltes gerann die Milch beim Erwärmen auf 37° schon von selbst. Auch wurde gefunden,¹⁾ daß bei diesem Säuregrade der Caseinkalk schon etwas angegriffen wird, was bei geringeren Säuremengen noch nicht stattfindet.

Jedenfalls wird der OH-Ionengehalt wohl auf ein Minimum reduziert sein. Die Gerinnung derartig angesäuertter Milch ist zwar weniger genau zu beobachten wie von gewöhnlicher; nach einiger Übung war es aber möglich, den Gerinnungspunkt mit der nötigen Schärfe festzustellen.

Für die Gerinnungsversuche nahm ich 15 ccm auf 37° erwärmter Milch, welche mit einigen Tropfen Lablösung versetzt wurden; die verdauende Wirkung wurde nach Mett bestimmt. Sowohl für die Gerinnungs-, als für die Verdauungsversuche stellte ich so viel wie möglich, durch Verdünnung, Lösungen von derselben Enzymwirkung her. Etwaige störende Einflüsse wurden dadurch reduziert, sodaß das Verhältnis der Enzymkonzentrationen einfach den Verdünnungen entsprach.

Neutrale Lösungen.

Kalbsmagenextrakt			Schweinemagenextrakt		
Enzym- menge Tropfen	Gerinnungs- zeit Sekunden	$\frac{1}{t}$	Enzym- menge Tropfen	Gerinnungs- zeit Sekunden	$\frac{1}{t}$
1	240	25	4	160	62
2	120	50	6	110	90
4	60	100	8	80	125
			10	60	166

Nach zweimal wiederholter Reinigung durch Fällen mit Ammoniumsulfat und Dialysieren gegen verdünnte Salzsäure erhielt ich untenstehende Werte. Da die Enzymlösungen sauer reagierten, wurde, um den Säuregrad der Milchenzymmischung

¹⁾ van Dam, Beitrag zur Kenntnis der Labgerinnung. Diese Zeitschrift, Bd. LVIII, S. 310.

konstant zu halten, immer dieselbe Menge Enzymlösung (3 Tropfen auf 15 ccm Milch) — aber in verschiedenem Verhältnis mit HCl verdünnt — zugegeben.

Saure Lösungen.

Gereinigtes Kalbsmagenenzym		Gereinigtes Schweinemagenenzym	
Verdünnung	Gerinnungszeit Sekunden	Verdünnung	Gerinnungszeit Sekunden
1 : 60	120	1 : 40	250
1 : 50	100	1 : 30	190
1 : 40	90	1 : 20	130
1 : 30	60	1 : 10	65

Zum Schluß ließ ich das Enzym auf gesäuerte Milch bei 0° C. einwirken, bei welchem Versuch eine etwaige schädigende Wirkung also möglichst ermäßigt wird. Die Lösungen wurden so weit verdünnt, bis die Gerinnungszeit (bei 37°) dieselbe war (50 Sekunden). Einige dünnwandige Röhrchen, mit Milch beschickt, wurden nun bei 0° in Eis abgekühlt und danach mit Enzym vermischt. Nach gemessenen Zeiten wurde die Milchenzymmischung in ein Wasserbad von 37° gebracht und die Zeit bestimmt, nach welcher Gerinnung eintrat. Als Vergleichspunkt wurde die sofortige Gerinnung der Milch beim Eintauchen in das Wasser angenommen. In diesem Falle also hatte die Enzymwirkung bloß bei 0° stattgefunden.

Die Mischung stand bei 0° C.		Dann Gerinnung nach
Kälberlab	5 Minuten	240 Sekunden
	15 „	60 „
	25 „	10 „ (sofort)
Schweinelab	15 „	90 „
	25 „	30 „
	30 „	15 „ (sofort)

Bei 0° hatte also das Kalbsmagenenzym die Milch in 25 Minuten zum Gerinnen gebracht, während dazu das Schweinemagenenzym 30 Minuten gebrauchte. Das bei 0° gefundene Verhältnis beider Enzyme ist also dasselbe wie das bei 37°

gefunden und man darf also annehmen, daß bei dieser Temperatur mit angesäuerter Milch keine Enzymvernichtung stattfindet.

Ich stellte mir die erforderlichen Enzymlösungen dar durch Extrahieren von getrockneten Kälber- und Schweinemagen. Soweit mir bekannt, verwendeten bisher die meisten Forscher dazu frische Magenschleimhäute, welches Rohmaterial viele Unannehmlichkeiten hat, da die Enzymlösungen meist durch größere Schleimmengen verunreinigt und daher schwer filtrierbar sind. Wenn man aber die Magen vorher trocknet, ist dieser Übelstand beseitigt, außerdem ist die Ausbeute an Enzym 5—10mal größer. Diese Tatsache ist, meiner Ansicht nach, auch für die Pepsin-Chymosinfrage nicht ohne Bedeutung. Das Enzym kommt augenscheinlich im frischen Magen hauptsächlich noch in inaktivem Zustande vor, oder es bildet sich erst beim langsamen Absterben der Zellen, wie dies auch beim Pankreas beobachtet worden ist. Nähere Untersuchungen müssen diese Frage klarlegen.

Eine bestimmte Menge eines zerkleinerten Magens wurde bei Zimmertemperatur während 14 Tagen mit einer 0,1%igen HCl-Lösung digeriert. Nach dem Abfiltrieren zeigten die Extrakte neutrale Reaktion. Eine Reinigung wurde durch Ausfällen mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ und Dialysieren gegen verdünnte Salzsäure (6 ccm N pro 100 ccm) vorgenommen.

Gerinnung	Verdauung in 15 Stunden
Kalbsmagenzym 1:180, 3 Tropfen, 120 Sekunden	unverdünnt 7 mm
Schweinemagenzym 1:20, 3 Tropfen, 130 Sekunden	» 7 »

Bei gleicher verdauenden Kraft hatte das Kalbspräparat eine 9mal kräftigere Labwirkung. Wiederholung der Reinigung änderte in diesem Verhältnisse nichts.

Ich wandte mich jetzt zur Prüfung von Handelspräparaten. Solche sind immer mit ziemlich großen Mengen Salz konserviert, welches (Pawlow, Gewin) die Verdauung stark stört. Es wurde daher durch Dialysieren gegen HCl entfernt, welche

wurde dies natürlich durch Dialyse fortgeschafft, dabei ergaben 50 ccm Filtrat 86 ccm; die Lösung des Niederschlages änderte ihr Volumen nicht.

Gerinnung	Verdauung
Handelslab 1:20, 5 Tropfen, 260 Sekunden	5%ige Pepsinlösung 6,8 mm
Filtrat, unverdünnt, 5 Tropfen, 120 Sekunden	Filtrat, unverdünnt, 8,5 "
Handelslab ¹⁾ 1:20, 5 Tropfen, 225 Sekunden	—
Lösung des Niederschlages 1:20, 5 Tropfen, 180 Sekunden	Lösung des Niederschlages, unverdünnt, 4,5 mm

Nach Umrechnung auf 50 ccm findet man:

Handelslab enthält: Chymosin 100%, Pepsin 16%.

Davon gefunden:

Im Niederschlag	63%	1,1%
Im Filtrat	16%	13,4%
Zusammen	79%	14,5%

Zieht man die bei der Bereitung unvermeidlichen Verluste in Betracht, so werden beide Enzymmengen hier also fast vollständig zurückerhalten.

Es wurden weiter die Enzymwirkungen von Magen ganz junger Kälber mit solchen von Tieren, welche schon 2 Monate alt waren (Graskälber), verglichen. Ich ließ mir 50 solcher Magen trocknen. Nach dem Zerkleinern wurde die Masse gut durcheinander gemischt und davon eine homogene Probe genommen. Auf dieselbe Weise wurde mit «nüchternen» Kalbsmagen, d. h. Magen von Milchkälbern verfahren. Je 200 g wurden mit 2 l 10%iger NaCl-Lösung während 14 Tagen ausgelaut. Die klar filtrierte Lösung wurde zum Gerinnungsversuche bloß verdünnt, zur Verdauung durch Dialysieren gegen HCl von Salz gründlich befreit. 50 ccm «nüchternes» Extrakt ergaben 67 ccm; 50 ccm «Graskalb» — Extrakt 65 ccm.

¹⁾ Der Versuch wurde mit anderer Milch ausgeführt.

Gerinnung	Verdauung	Quadratzahlen, umgerechnet auf 50 ccm
Handelslab 1 : 20, 5 Tropfen, 310 Sekunden	5 %iges Pepsin, unverdünnt, 2 mm	—
Nüchternes Kalb 1 : 20 5 Tropfen, 220 Sekunden	Nüchternes Kalb, unverdünnt, 3,1 mm	12,9
Graskalb 1 : 10, 5 Tropfen, 440 Sekunden	Graskalb, unverdünnt, 4,5 mm	26,0
1 : 10 10 Tropfen, 220 Sekunden ¹⁾	—	—

Hieraus ergibt sich, daß, während der Labgehalt des Graskalbmagens bis auf ein Viertel des des nüchternen Magens sinkt, der Pepsingehalt in derselben Zeit verdoppelt wird.

Es ist eine allbekannte Tatsache, daß die «nüchternen» Kalbsmagen reicher an Chymosin sind, wie Magen von älteren Tieren. Es darf nicht wundern, daß das junge Tier, welches noch ganz auf Milchernährung angewiesen ist, zu deren Verdauung mit einem spezifischen Milchenzym (Chymosin) ausgerüstet ist. Wenn es sich entwickelt und zu seiner Ernährung nicht nur Milch allein bekommt, wird auch weniger Chymosin von den Magendrüsen ausgeschieden werden; zur selben Zeit aber wird das andere eiweißverdauende Enzym, das Pepsin, mehr in den Vordergrund treten müssen. Dies steht in Übereinstimmung mit den beobachteten Tatsachen.

Natürlich könnte man, unter Annahme der Einenzymtheorie, einwenden, daß die kräftigere Proteolyse des Magens älterer Tiere dem Umstand zuzuschreiben sei, daß dieser weniger antipeptische Substanzen enthält, während die Verminderung des Labwertes dadurch bedingt sein könnte, daß sich zur selben Zeit gerinnungshemmende Substanzen bildeten.

Auf die pepsinstörenden Substanzen komme ich unten noch zurück. Über labhemmende Stoffe kann folgendes bemerkt werden.

Ich bereitete mir einen Auszug aus Schweinemagen, durch Extrahieren mit 10%iger Kochsalzlösung, während 14 Tagen.

¹⁾ Labvernichtung bei der Gerinnung findet nicht statt.

Derselbe zeigte kräftig verdauende Wirkung, gleich einer 75%igen Pepsinlösung, und war also 5mal kräftiger peptisch wirksam wie das Handelslab, hatte aber nur $\frac{1}{10}$ von dessen Labwirkung. In dieser enzymreichen, aber doch lab schwachen Flüssigkeit konnte also eine sehr große Menge labstörender Substanzen sich befinden. Wenn man nun dieses Extrakt mit gewöhnlichem Lab vermischt, wäre also eine bedeutende Verringerung der Labkraft zu erwarten.

Es wurde nun folgender Versuch gemacht. Das Extrakt wurde gegen destilliertes Wasser bis auf etwa 0,5% NaCl dialysiert, mit dieser Flüssigkeit wurde das Handelslab, wie üblich, 1 : 20 verdünnt. Zur Kontrolle vermischte ich das Lab mit Wasser (1 : 20). Beide Lösungen blieben eine Viertelstunde stehen. Der Gerinnungsversuch wurde mit nicht gesäuerter Milch ausgeführt. Das Schweinemagenpräparat rief darin überhaupt keine Gerinnung hervor.

Lab mit Wasser verdünnt,	Gerinnung 285 Sek.
» » Schweinemagenextrakt,	» 290 »

Eine nennenswerte Beeinträchtigung des Labwertes durch Zugabe einer etwa zwanzigfachen Menge Schweinemagenextraktes war nicht zu beobachten und labhemmende Stoffe waren also nicht nachzuweisen.

Wie schon oben (S. 175) bemerkt, zeigten die gereinigten Kalbsmagenpräparate immer eine bedeutend kräftigere Labwirkung wie das Pepsin. Es ist mir nun geglückt, beide Enzymwirkungen noch mehr von einander zu trennen und zwar durch Sättigen der Enzymlösungen mit Kochsalz, wodurch ein flockiger Niederschlag gebildet wird, welcher eine sehr starke Labwirkung, aber geringe verdauende Kraft hat. Das Filtrat ist labarm, zeigt aber kräftige Proteolyse. Zur Bestimmung der Pepsinwirkung wurde die ursprüngliche Lablösung, sowie das Filtrat durch Dialysieren gegen Salzsäure wieder gründlich von NaCl befreit; 50 ccm Lab ergaben 70 ccm, 50 ccm Filtrat 86 ccm.

Gerinnung ¹⁾	Verdauung
Handelslab 1 : 20, 5 Tropfen, 260 Sekunden	Handelslab, unverdünnt, 9 mm
Filtrat, unverdünnt, 5 Tropfen, 120 Sekunden	Filtrat > 7,5 >

Nach Umrechnung auf die ursprünglichen Flüssigkeitsmengen ist aus diesen Zahlen zu entnehmen, daß, während 84% des Chymosins durch das NaCl gefällt werden, die Pepsinwirkung der Flüssigkeit sich bloß um 15% verringert.

Der Niederschlag wurde nun in Wasser aufgelöst, die Lösung, welche eine nur ganz schwache Biuretreaktion zeigte, war von kräftiger Labwirkung, hatte aber einen geringeren Pepsinwert als das ursprüngliche Handelslab:

Gerinnung	Verdauung
Handelslab 1 : 20, 1 Tropfen, 125 Sekunden	—
Chymosin 1 : 20, 2 Tropfen, 112 Sekunden	Chymosin, unverdünnt, 4,5 mm
5%iges Pepsin, unverdünnt, 2 Tropfen, 120 Sekunden	Pepsin, > 7,5 >

Das Chymosinpräparat war von **53** mal kräftigerer Labwirkung wie das Pepsin.

Die Flüssigkeit wurde abermals mit Salz gesättigt, der Niederschlag abfiltriert, mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen und nach Aufnahme in Wasser und Fortschaffen des Salzes durch Dialyse, wie üblich, analysiert.

Gerinnung	Verdauung
Handelslab 1 : 20, 1 Tropfen, 105 Sekunden	—
Chymosin 1 : 10, 2 Tropfen, 50 Sekunden	Chymosin, unverdünnt, 1 mm
5%iges Pepsin, unverdünnt, 2 Tropfen, 75 Sekunden (?)	Pepsin, > 3 >

¹⁾ Die Gerinnung wurde mit undialysierten Flüssigkeiten in ungesäuertter Milch ausgeführt; es wurde auch in Rechnung gezogen, daß 5 Tropfen Filtrat (25% NaCl) nur $\frac{1}{8}$ ccm, während 5 Tropfen des verdünnten Labs $\frac{1}{4}$ ccm entsprechen.

Umgerechnet auf dieselbe Verdauung hatte der zweite Niederschlag einen **135** mal kräftigeren Chymosinwert. Nachdem ich zum dritten Male mit NaCl ausgefällt hatte, erhielt ich folgende Werte:

Gerinnung	Verdauung
Handelslab 1 : 20, 1 Tropfen, 90 Sekunden	—
Chymosin 1 : 40, 1 Tropfen, 90 Sekunden	Chymosin, unverdünnt, 2 mm
5 %iges Pepsin, unverdünnt, 3 Tropfen, 75 Sekunden	Pepsin „ 6 „

Das Kalbsmagenenzym war jetzt von **900** mal kräftigerer Labwirkung als das Pepsin.

Zum Schluß habe ich dieses Präparat gereinigt nach Pekelharing¹⁾ durch Dialysieren gegen destilliertes Wasser und Lösen des nach 24 Stunden gebildeten Niederschlages in 0,2 %iger Salzsäure.

Gerinnung	Verdauung
Handelslab 1 : 20, 1 Tropfen, 90 Sekunden	—
Chymosin 1 : 10, 2 Tropfen, 80 Sekunden	Chymosin, unverdünnt, 1,5 mm
5 %iges Pepsin, unverdünnt, 2 Tropfen, 90 Sekunden	Pepsin, „ 14,0 „

Das Chymosin war daher von **983** mal kräftigerer Labwirkung als das Pepsin.

Faßt man die Resultate zusammen, so erhält man für gleich starke Verdauung:

Kalbsmagenextrakt	13 mal kräftigere Labwirkung wie eine Pepsinlösung
1. Niederschlag	53 „ „ „ „ „ „
2. „	135 „ „ „ „ „ „
3. „	900 „ „ „ „ „ „
Derselbe gereinigt nach Pekelharing	983 „ „ „ „ „ „

Woraus ersichtlich wäre, daß durch Aussalzen mit Kochsalz eine fraktionierte Fällung von Chymosin möglich sei.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXII, S. 233.

Die Reinigung nach Pekelharing wurde noch einige Male wiederholt. Dazu diente ein anderes Präparat. Die Chymosinwirkung der Lösungen wurde gleich der des Handelslabs gemacht.

1. Reinigung	verdaut	1 mm
2. »	»	1 »
5% Pepsinlösung	»	9 »

1. Reinigung } : Pepsin = 1 : 81.
2. » }

Es wurde nun zum dritten Male das Enzym durch Dialyse niedergeschlagen, die Lösung wurde bis auf die 1½fache Wirkung des Handelslabs gebracht, und um möglichst gleiche Millimeterzahlen zu haben, wurde die Pepsinlösung diesmal bedeutend verdünnt. Es wurde folgendes gefunden:

2. Reinigung (100% Handelslab)	2,2 mm
3. » (150% »)	3,0 »
Pepsinlösung (verdünnt 1 : 30)	3,8 »

Nach Umrechnung auf Handelslabgehalt war das Verhältnis:

2. Reinigung	:	Pepsin	=	1 : 89
3. »	:	»	=	1 : 74
Handelslab	:	»	=	3 : 1 (oben gefunden).

Nach der dritten Reinigung wurde zwar eine geringe Vermehrung der Pepsinwirkung konstatiert, bei den kleinen Millimeterzahlen liegt diese aber wohl innerhalb der Beobachtungsfehler. Jedenfalls ist die Proteolyse im Verhältnis zum Gehalt der ursprünglichen Lablösung wohl äußerst gering.

Gegen obige Trennungsversuche könnte man allerdings vom unitarischen Standpunkte einwenden, daß das Ausbleiben der Proteolyse bei diesen durch Fällen mit NaCl hergestellten Präparaten dadurch verursacht wurde, daß dieselben durch größere Mengen, die Verdauung von Hühner-Albumin hemmende Substanzen verunreinigt waren, da solche vom NaCl mitgerissen wurden: dies würde auch erklären, warum das von diesen Antistoffen befreite Filtrat kräftige Proteolyse zeigte.

Die labschwächsten Präparate müßten dann einen größeren Überschuß davon enthalten, und man könnte erwarten, daß beim

Vermischen mit einer Pepsinlösung diese in ihrer Wirkung bedeutend gehemmt würde.

Eine 5%ige Handelspepsinlösung wurde resp. mit einem Teile verdünnter Salzsäure und mit meinem Chymosinpräparate vermischt.

Mit HCl	verdünntes Pepsin	verdaut	2,5 mm
» Chymosin	»	»	2,5 »

Auch ein schwächeres Pepsin wurde ebenso wenig durch das Chymosinpräparat beeinflusst. Eine 2%ige Pepsinlösung wurde wie oben verdünnt (das Chymosin war gleich stark wie Handelslab).

Mit HCl	verdünntes Pepsin	verdaut	3,5 mm
» Chymosin	»	»	3,5 »

Es konnte also keine pepsinhemmende Wirkung beobachtet werden.

Hierzu kommt noch, daß nicht nur Hühneralbumin ganz schwach angegriffen wird, sondern auch Gelatine und Fibrin. Ein Tropfen, auf eine angesäuerte Gelatineplatte gebracht, rief keine Verflüssigung zum Vorschein.

Die Verdauung des Fibrins wurde derart ausgeführt, daß 0,05 g Fibrin in 10 ccm 0,2%iger HCl suspendiert wurden, es wurden nun 0,5 ccm der Enzymlösung zugegeben, die Röhrcchen in den Thermostaten gestellt und regelmäßig umgeschüttelt. Diese Versuchsordnung hatte noch den Vorteil, daß durch die erhebliche Verdünnung der Enzymlösung der Einfluß der hemmenden Substanzen herabgemindert wurde.

Das Fibrin wurde gelöst von:

5% Pepsin	in	4	Stunden
dialysiertes Handelslab ¹⁾	»	3,5	»
Chymosin	»	55	»

¹⁾ Das hier gefundene Verhältnis zwischen Chymosin und Pepsin war 1:14, aus dem Versuch mit Mettschen Röhrcchen fand ich 22,5:1. Für quantitative Versuche ist das Fibrin jedoch nicht geeignet. Verdünnte ich doch die 5%ige Pepsinlösung bis auf das 22,5 fache Volumen, so war das Fibrin schon in 30 Stunden statt in den berechneten 90 Stunden gelöst. Eine Verdauung in 55 Stunden zeigt jedenfalls eine sehr schwache Proteolyse an.

Auch hier zeigte das Chymosinpräparat eine sehr unbedeutende Proteolyse.

Zum Schluß habe ich noch versucht aus Schweinemagen ein labfreies Pepsin herzustellen. Dazu wurden die Schweinemägen mit 5%iger Kochsalzlösung extrahiert und dieses Extrakt mit NaCl gesättigt. Hierdurch wurde das Chymosin — oder nach unitarischer Auffassung: die pepsinstörenden Substanzen — entfernt, jedenfalls bekommt man durch diese Operation eine im Verhältnis zum Labgehalte sehr kräftig wirkende Pepsinflüssigkeit.

Der erzeugte Niederschlag war im Gegensatz zu dem aus Kalbsmageninfusionen resultierenden sehr gering. Durch Dialysieren wurde dann der Salzgehalt bis auf 10% herabgemindert, worauf durch Sättigen mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ das gesamte Enzym als voluminöser Niederschlag gefällt wurde. Dies wurde in wenig Wasser gelöst und gegen 0,2%ige HCl erschöpfend dialysiert. Die Lösung hatte nur halb so große gerinnende Wirkung als Handelslab, die Proteolyse war sehr kräftig; 1 : 10 verdünnt verdaute sie 4,5 mm, gegen 2 mm 5%igen Pepsins, war also so kräftig, wie eine 250%ige Pepsinlösung sein würde. Essigsäure, Kochsalz, Kochsalz und Essigsäure, Salzsäure oder Magnesiumsulfat erzeugten keinen Niederschlag, Tannin gab einen Niederschlag, welcher in 0,2%iger HCl unlöslich war. Dialysieren gegen destilliertes Wasser gab nur eine geringe Trübung. Durch Behandeln mit basischem Bleiacetat und NH_3 erhält man einen voluminösen Niederschlag, welcher nach Zerreiben mit Oxalsäure und Dialysieren eine Pepsinlösung gab, die im selben Verhältnis zur Chymosinwirkung stand, wie die ursprüngliche. Zum Schluß wurde das Präparat der Autodigestion unterworfen, doch auch hier gelangte ich nicht zum Ziel, im Gegenteil: die Verringerung beider Enzymwirkungen war völlig proportional.

	50%	Handelslab	=	250%	Pepsin
Nach einer Woche:	10%		=	50%	
drei Wochen:	5%		=	25%	

Es muß zugegeben werden, daß dieser Befund eine starke

Stütze für die Einenzymtheorie ist, angenommen natürlich, daß die Enzyme der Kälber- und Schweinemagen identisch sind.

Vergleicht man aber diese Schweinemagenenzymlösung mit dem von mir durch Fällen mit Kochsalz und dreimaligem Dialysieren gereinigten pepsinschwachen Präparate (S. 182), so könnte man, unter Zugrundelegung des Enzymwirkungsverhältnisses des Schweinemagens und Annahme der unitarischen Theorie, berechnen, daß dieses Chymosin nur $\frac{1}{37\,000}$ seiner Pepsinwirkung entfaltet. Der Überschuß an pepsinhemmenden Substanzen müßte also recht bedeutend sein; aber gerade dies wurde durch die Versuche widerlegt.

Es bleibt noch die einzige Möglichkeit, daß es sich hier nicht um Verunreinigung mit ziemlich viel antiproteolytisch wirkenden Substanzen handelt, wie sie tatsächlich von Gewin in Magenextrakten aufgefunden wurden und welche dadurch charakterisiert waren, daß sie beim Vermischen mit einer gut wirkenden Pepsinlösung diese teilweise unwirksam machten — sondern, daß das Enzym vielleicht nur äußerst kleine Mengen Substanz chemisch gebunden oder adsorbiert enthält, wodurch seine Proteolyse aufgehoben wird. Ein derartig unwirksames Enzym würde selbstverständlich ohne Einfluß auf aktives Enzym sein.

Die oben stehenden Versuche stützen aber diese Auffassung vorläufig nicht und ich halte es also am wahrscheinlichsten, daß durch Ausfällen mit Kochsalz eine Trennung beider Enzyme erzielt werden kann.

Rotterdam, Oktober 1910. Laboratorium der Labfabrik W. H. van Hasselt.

J. F. B. van Hasselt.