

Fortgesetzte Untersuchungen über den Einfluß des physikalischen Zustandes von Proteinen auf die Raschheit ihres Abbaues durch Fermente. Die Bedeutung der Verdauung von Proteinen durch Pepsinsalzsäure für deren weiteren Abbau durch Trypsin. Kritische Bemerkungen zur Beurteilung des Grades des Abbaus von Proteinen durch Fermente.

Von

Emil Abderhalden und Chauncey J. Vallette Pettibone.

(Aus dem physiologischen Institute der Universität Halle a. S.)

(Der Redaktion zugegangen am 18. September 1912.)

Bei zahlreichen Problemen tritt uns die Frage entgegen, wie weit Eiweißkörper verschiedener Art durch bestimmte Fermente in einer bestimmten Zeit unter bestimmten Bedingungen abgebaut worden sind. Bei der Verfolgung der Spaltung von Polysacchariden, Fetten usw. stehen wir vor der gleichen Frage. Ihre Beantwortung erscheint im allgemeinen leicht. Betrachtet man jedoch die Möglichkeiten des Verlaufs des Abbaus eines kompliziert gebauten Körpers, dann drängt sich unmittelbar die Frage auf, ob die jetzt angewandten Methoden zur Untersuchung des Umfangs des Abbaus eines bestimmten Körpers auch ausreichend waren, um die gezogenen, oft recht weitgehenden Schlüsse zu rechtfertigen. Um ein bestimmtes Problem herauszugreifen, sei auf die Untersuchung des Abbaus von Proteinen bei autolytischen Prozessen verwiesen. Häufig wurde der Grad des Abbaus einzig und allein darnach beurteilt, wie viel Stickstoff nach erfolgter Koagulation noch vorhandener Proteine im Filtrat anwesend war. Der Stickstoffgehalt des koagulierten Anteils ist oft nicht weiter berücksichtigt worden, obwohl seine Feststellung eine wertvolle Kontrolle des Ergebnisses der Stickstoffanalyse des Filtrates ergeben hätte. Wird im Filtrat viel Stickstoff gefunden, dann wird geschlossen, daß ein weitgehender Abbau stattgefunden habe. Der gegenteilige Schluß eines weniger umfangreichen Abbaus ergibt sich aus einem geringeren Stickstoffgehalt des Filtrates vom koagulierbaren Teil.

Uns scheinen derartige Schlüsse nicht ohne weiteres gerechtfertigt. Wir wissen, daß der Abbau kompliziert gebauter

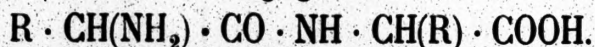
Produkte durch Fermente stufenweise erfolgt. Je nach der Art der Fermente ist der Abbau ein ganz typischer. Unsere Kenntnisse über die Zahl und die Art der proteolytischen Fermente sind immer noch äußerst dürftige. Wir besitzen keine Anhaltspunkte dafür, daß der Abbau bestimmter Proteine unter wechselnden Bedingungen durch bestimmte Fermentlösungen immer in gleichen Bahnen erfolgt. Beispiele mögen erläutern, in welcher Weise ein Abbau durch Fermente sich vollziehen kann. Es kann ein kompliziertes Molekül in einfachere Bruchstücke zerfallen. Die einzelnen Bruchstücke werden weiter abgebaut. Der ganze Abbau durchläuft von Stufe zu Stufe genau die gleiche Reihenfolge. Die Zerlegung in einfachere Bruchstücke kann schnell oder langsam erfolgen. Bei verzögertem Abbau würde in einem bestimmten Momente noch ein größerer Teil kompliziert gebauter Moleküle vorhanden sein. Der Stickstoffgehalt der einfacher gebauten Moleküle würde uns ebenso gut über die Geschwindigkeit des Abbaus orientieren, wie derjenige der kompliziert gebauten, z. B. kolloiden Moleküle.

Es kann jedoch auch folgender Fall eintreten. Bestimmte Bedingungen beeinflussen die Fermente, die die Zerlegung eines kompliziert gebauten Moleküls herbeiführen, nicht gleichmäßig. Der Abbau hat eingesetzt. Es entstehen einfachere Moleküle. Unterdessen haben sich Bedingungen herausgebildet, die den weiteren Abbau bestimmter Zwischenprodukte oder auch des Ausgangsmateriales lahmlegen. Der Abbau der schon gebildeten, einfacheren Abbaustufen geht jedoch weiter und wird vielleicht sogar zu Ende geführt. Wir haben in diesem Falle vielleicht mehr einfachste Abbauprodukte als bei einem anderen Versuche, der mehr «nichtkoagulierbaren» Stickstoff enthält. Wie soll man derartige Ergebnisse beurteilen?

Es ist ferner folgende Möglichkeit vorhanden. Ein bestimmter Zusatz zu einer Autolyse beschleunigt den Abbau bestimmter Proteine außerordentlich. Es kommt rasch zur Bildung einfachster Abbaustufen. Diese hemmen den weiteren Abbau anderer Proteine. Es ergibt sich ein geringer Gehalt des Filtrates des koagulierten Eiweißes an Stickstoff, während im Parallelversuch das Filtrat einen hohen Stickstoffgehalt auf-

weist, obschon vielleicht der Abbau nur bis zu hochmolekularen Peptonen gediehen ist.

Wir besitzen nun ein Maß, um uns über den Grad der Aufspaltung von Eiweiß zu orientieren. Alle bisherigen Beobachtungen stimmen darin überein, daß mit der Zerlegung von Proteinen mehr und mehr Aminogruppen freigelegt werden. Ein großer und vielleicht der größte Teil der Aminosäuren ist im Eiweißmolekül säureamidartig gebunden:



Unter Wasseraufnahme wird bei der Hydrolyse diese Bindung gelöst. Die Anzahl der in einem bestimmten Momente vorhandenen Aminogruppen gibt uns einen Anhaltspunkt über den Grad des Abbaus eines Proteins durch Fermente.

Berücksichtigen wir beim Studium des Abbaus von Proteinen durch Fermente neben den in Lösung gegangenen stickstoffhaltigen Produkten gleichzeitig auch die Menge des Aminostickstoffs, dann haben wir bereits zwei Größen zur Beurteilung des Grades der Zerlegung des angewandten, kompliziert gebauten Moleküls. Es kann der Fall eintreten, daß der Stickstoffgehalt des untersuchten Filtrates nach Entfernung der koagulierbaren Massen und der Aminostickstoff ein analoges Verhalten zeigen. Vergleichen wir zwei Versuche, dann können der «nichtkoagulable» Stickstoff und der Aminostickstoff im gleichen Sinne gesteigert oder vermindert sein. Es läßt sich jedoch auch der schon oben diskutierte Fall denken, daß der in Lösung gegangene Stickstoff an Menge gering ist und trotzdem der Aminostickstoff bedeutend gesteigert ist. Es ist dies dann der Fall, wenn vom Ausgangsmaterial ein geringerer Teil zu Peptonen abgebaut worden ist, dafür aber diese rasch weiter zerlegt wurden.

Soll man nun den Grad des Abbaus nach der Menge des sogenannten nichtkoagulierbaren Stickstoffs beurteilen oder nach dem Gehalt an Aminostickstoff? Diese Frage dürfte zurzeit noch nicht zu entscheiden sein. Dagegen muß mit aller Bestimmtheit verlangt werden, daß in Zukunft bei all den gestreiften Fragestellungen der sogenannte koagulierbare, der

nichtkoagulierbare und endlich der Aminostickstoff bestimmt wird. In manchen Fällen wird man auf die Bestimmung des ersteren verzichten können und oft müssen, wenn der Abbau so fortgeschritten ist, daß fast alles sich in Lösung befindet. Durch die Mitbestimmung des Aminostickstoffs werden sich ohne Zweifel speziell bei Autolyseversuchen ganz neue Gesichtspunkte ergeben.

Daß unsere Forderung nach Feststellung des Aminostickstoffs in der Tat eine berechtigte ist, geht aus manchen der weiter unten mitgeteilten Versuche hervor. Wir beobachteten z. B., daß bei vergleichenden Versuchen gleichviel Stickstoff in Lösung gegangen war. Somit war der Schluß gegeben, daß der Abbau in beiden Fällen gleich weit fortgeschritten war. Eine Vergleichung der Aminostickstoffwerte zeigt jedoch deutlich, daß im einen Falle viel mehr Aminogruppen freigelegt worden sind, als im anderen.

Es steht uns noch eine weitere Möglichkeit offen, um den Abbau von Proteinen zu studieren, nämlich die optische Methode. Wir können neben der Bestimmung des Stickstoffs und des Aminostickstoffs noch das Drehungsvermögen und eventuell auch den Brechungsindex des Verdauungsgemisches feststellen. Selbstverständlich darf man nie aus der Größe des Drehungsvermögens irgendwelche Schlüsse auf den Grad des Abbaus ziehen. Eine sehr hohe Drehung kann mit einem ganz geringfügigen Abbau verknüpft sein, während ein ganz kleines Drehungsvermögen durch eine große Anzahl einfacher, aber in verschiedener Richtung drehender Spaltstücke bedingt sein kann. Bei vergleichenden Versuchen kann jedoch die Bestimmung des Drehungsvermögens uns ein weiteres Moment zur Beurteilung des einzelnen Falles abgeben. Je mehr Punkte wir zur Feststellung des Verlaufs und des momentanen Standes des Abbaus einer kompliziert gebauten Verbindung fixieren können, um so sicherer werden die Schlußfolgerungen werden. Ferner werden uns Einzelheiten enthüllt, die bis jetzt bei der sehr einseitigen Untersuchungsart verborgen blieben. Gerade bei Studien über die Beeinflussung der Autolyse durch alle möglichen Agenzien werden die aus den einzelnen Versuchen

gezogenen Schlußfolgerungen viel eindeutiger werden, wenn mehr Faktoren als die bloße Stickstoffbestimmung im Filtrat des koagulierbaren Anteils zur Verfügung stehen. Resultate, welche scheinbar übereinstimmen, werden vielleicht große Unterschiede zeigen, wenn die erwähnten Bestimmungen mit zur Beurteilung des Abbaus herangezogen werden, während in anderen Fällen anscheinend große Unterschiede sich als kleine erweisen werden. Man wird ferner feststellen können, an welcher Stelle des Abbaus ein bestimmtes Agens einsetzt und seine spezielle Wirkung entfaltet. Vor allen Dingen wird man auch in der Lage sein, zu beurteilen, ob verschiedene Teile ein und desselben Organes bei einer einfachen Autolyse einen gleichmäßigen Abbau zeigen. Beobachtungen an isolierten Proteinen zeigen nämlich, daß der Abbau einmal durch die entstehenden Abbaustufen stark beeinflußt wird und ferner von dem physikalischen Zustande abhängig ist. Je feiner zerteilt ein Protein ist, um so rascher wird es im allgemeinen zerlegt.

Noch weitere Komplikationen treten ein, wenn man versucht, ein Verdauungsgemisch mit bestimmten Fällungsmitteln zu trennen und aus den erhaltenen Fraktionen ein Urteil zu gewinnen. Wählt man z. B. die Phosphorwolframsäure als Fällungsmittel, dann kann, wie wir durch besondere Versuche feststellen konnten, schon die Art des Zusatzes des Fällungsmittels Unterschiede bedingen. Selbstverständlich wird man bei vergleichenden Versuchen stets die gleichen Konzentrationen des Fällungsmittels anwenden. Wird ein Verdauungsgemisch unter fortwährendem Rühren bei tropfenweisem Zusatz von Phosphorwolframsäure gefällt, dann erhält man einen staubfeinen Niederschlag. Setzt man das Fällungsmittel in größeren Portionen zu, dann tritt oft die Bildung von zähen, teigartigen Fällungen auf, die sich mit Vorliebe an der Wand des Gefäßes absetzen. Diese zähen Massen sind sehr schwer auszuwaschen. Die Menge des Phosphorwolframsäureniederschlages und sein Stickstoffgehalt können uns selbstverständlich keine exakte Feststellung des Grades des Abbaues ergeben, denn es fallen mit der Phosphorwolframsäure einmal viele kompliziert gebaute Abbaustufen der Proteine, ferner viele Aminosäuren (speziell die

sogenannten Diaminosäuren) und endlich auch Ammoniak usw. Es kann somit ein sehr starker Niederschlag mit Phosphorwolframsäure ebensogut für einen wenig weit vorgeschrittenen Abbau sprechen, wie für einen sehr tiefgehenden. Hier muß eine weitere Methode eingreifen, nämlich die Bestimmung des Aminostickstoffgehaltes des Phosphorwolframsäureniederschlages vor und nach erfolgter Hydrolyse der gefallen Massen. Eine Zunahme des Aminostickstoffs nach erfolgter Spaltung zeigt an, daß im Niederschlag Produkte vorhanden waren, die Aminosäuren gebunden enthielten. Die von Sörensen und von van Slyke geschaffenen Methoden erleichtern derartige Bestimmungen ganz außerordentlich. Was die Bestimmung nach van Slyke anbetrifft, so müssen bei vergleichenden Versuchen die Bedingungen, unter denen die Bestimmung vorgenommen wird, peinlich genau gleich gehalten werden. Wir beobachteten z. B., daß der Zusatz von Amylalkohol zur Verhinderung des Schäumens nicht ohne Einfluß auf die Zersetzung der die Aminogruppe enthaltenden Substanzen ist. Erst als wir stets genau gleich geringe Mengen von Alkohol zusetzten, erhielten wir vergleichbare Werte. van Slyke schlägt neuerdingss Oktylalkohol an Stelle von Amylalkohol vor.

Diese Bemerkungen sollen nur zeigen, wie notwendig es ist, daß bei allen Verdauungsversuchen möglichst viele Einzelheiten bestimmt werden. Nur auf diesem Wege wird es möglich sein, zu Resultaten zu gelangen, welche vergleichend verwertbar sind. Einfache Stickstoffbestimmungen sind nicht maßgebend. Sie geben nur ein sehr rohes und noch sehr vieldeutiges Bild des Verlaufs bestimmter Fermentwirkungen. Je mehr Punkte sich festlegen lassen, um so klarer und eindeutiger werden die Schlüsse werden. Die Anwendung von Fällungsmitteln mit nachträglicher Feststellung des Aminostickstoffs vor und nach erfolgter Hydrolyse stellen ein viertes Hilfsmittel dar, um vergleichende Untersuchungen durchzuführen.

Es sei zunächst über diejenigen Versuche berichtet, die sich mit der Frage nach dem Einfluß der Verdauung von Proteinen mit Magensaft auf diejenige mit proteo-

lytischen Fermenten vom Typus des Trypsins beschäftigt. Leider war es uns unmöglich, zu den Versuchen Pankreassaft zu benutzen. Wir wandten Pankreatin an. Dieses enthält neben Trypsin sicher noch proteolytische Zellfermente. Da jedoch bereits erwiesen ist, daß die Verdauung durch Pankreassaft rascher zu einfacheren Abbaustufen führt, wenn eine solche mit Magensaft vorausgegangen ist, sind die mit Pankreatin ausgeführten Versuche als Bestätigung dieses Befundes immerhin verwertbar. Uns lag bei diesen Versuchen hauptsächlich daran, festzustellen, ob die bloße Feststellung des sogenannten löslichen Stickstoffs zu eindeutigen Schlußfolgerungen genügt.

I. Versuche mit Casein.

Das zu den Versuchen verwendete Casein war nach der Vorschrift von Hammarsten dargestellt worden. Es enthielt 13,56% N. Zu den einzelnen Versuchen verwendeten wir je 5 g dieses Präparates. Diese Menge wurde in den einen Versuchen mit Magensaft verdaut, bei anderen folgte dann noch eine Einwirkung von Pankreatin und endlich ließen wir letzteres auch direkt einwirken.

5 g Casein wurden mit 10 ccm Magensaft vom Hunde, den wir der großen Güte der Herren London und Babkin, St. Petersburg, verdanken, und mit 20 ccm $n/10$ -Salzsäure versetzt. Um jeder Möglichkeit einer Fäulnis vorzubeugen und ferner gleiche Bedingungen zu haben, gaben wir etwas Chloroform und Toluol zu. Nach bestimmter Zeit wurde der in Lösung übergegangene Stickstoff festgestellt und ferner der Aminostickstoff bestimmt. Bei den Versuchen, bei denen sich eine Verdauung mit Pankreatin anschloß, neutralisierten wir die Salzsäure mit 3 ccm n-Natronlauge. Dann gaben wir 0,5 g Natriumcarbonat zu und ferner 2 g Pankreatin. Fand nur eine Pankreatinverdauung statt, dann gaben wir zu 5 g Casein 30 ccm $n/10$ -Salzsäure und 3 ccm n-Natronlauge. Diese Zugabe erfolgte, damit wir genau die gleichen Bedingungen hatten, wie bei den Versuchen mit Pankreatin, denen eine Magensaftverdauung vorausgegangen war. Dann setzten wir 0,5 g Natriumcarbonat und 2 g Pankreatin zu.

Nach Zugabe von etwas Chloroform und Toluol wurde dann bei 37° verdaut. In allen Fällen wurde zum Schlusse aufgekocht, filtriert und der Filtrerrückstand mit gleichen Mengen Wasser ausgewaschen. Das Filtrat diente zu den einzelnen Bestimmungen.

In den folgenden Tabellen sind die Stickstoffwerte in Gramm auf 100 ccm der filtrierten Lösung angegeben. Bemerket sei noch, daß auch dann, wenn nur die Magensaftwirkung studiert wurde, vor dem Aufkochen und der Filtration mit der berechneten Menge Natronlauge neutralisiert wurde, um auch in dieser Beziehung in allen Fällen gleiche Bedingungen zu haben. Wir haben neben dem Stickstoffgehalt den Amino- und in manchen Fällen auch den Ammoniakstickstoff bestimmt. Bei einigen Versuchen wurde auch das Drehungsvermögen des Verdauungsgemisches ermittelt.

II. Versuche mit Elastin.

Wir verwendeten je 6 g feuchtes Elastin (entsprechend 2,12 g trockenem Elastin). Es enthielt 6,4% Stickstoff. Die einzelnen Versuche wurden in gleicher Weise durchgeführt, wie diejenigen mit Casein, nur gaben wir an Stelle von 10 ccm Magensaft 25 ccm hinzu.

Aus den folgenden Tabellen geht folgendes hervor. War der Verdauung mit Pankreatin eine solche mit Magensaft vorausgegangen, dann war meist der Stickstoffgehalt der Lösung, und ferner der Aminostickstoffgehalt ein höherer, als wenn die Pankreatinwirkung ohne Vorbereitung stattfand. In manchen Fällen ist der Stickstoffgehalt zwar nicht vermehrt, wohl aber zeigt der Aminostickstoff eine deutliche Zunahme. Auffallenderweise war beim Casein der Ammoniakgehalt ein viel erheblicherer, wenn die Pankreatinwirkung ohne vorherige Einwirkung von Magensaft stattfand. Beim Elastin sind die Schwankungen im Ammoniakgehalt an und für sich zu groß, um Schlüsse zuzulassen. Offenbar spielt beim Elastin die große Heterogenität des Materials eine sehr große Rolle. Worauf die großen Unterschiede im Ammoniakgehalt des Verdauungsgemisches beruhten, je nachdem wir Pankreatin allein oder

in Kombination mit Magensaft wirken ließen, können wir zurzeit nicht feststellen. Es wäre denkbar, daß das Pepsin das Eiweiß so abbaut, daß die Pankreatinwirkung nicht mehr so viel Ammoniak in Freiheit setzen kann. Wir werden diese Beobachtung weiter verfolgen. Sie ist vielleicht auch nur eine zufällige, durch die Art der Verarbeitung bedingte. Das Ammoniak wurde nach Krüger-Reich-Schittenhelm bestimmt.

Sehr groß sind die Unterschiede zwischen dem Stickstoff- und Aminostickstoffgehalt des Filtrates bei den Versuchen, bei denen eine kombinierte Pepsin- und Pankreatinverdauung stattfand, gegenüber denen, bei welchen nur Pankreatin abbauen konnte, im allgemeinen nicht. Es ist wohl möglich, daß die Unterschiede bedeutender wären, wenn kürzere Zeitintervalle untersucht worden wären. Beim Elastin muß außerdem noch berücksichtigt werden; daß das absorbierte Pepsin im Innern des Elastins fortwirken konnte, auch wenn außen die Reaktion alkalisch war. Das Verhalten des Drehungsvermögens zeigt deutlich, daß trotz der ähnlichen Stickstoff- und Aminostickstoffwerte große Unterschiede in der Art der vorhandenen Abbaustufen vorhanden waren.

Verdauung von Casein.

Nr.	Magensaft- wirkung Tage	Pankreatin- wirkung Tage	Gesamt-N in g in 100 ccm	Amino- stickstoff in g in 100 ccm	Ammoniak- stickstoff in g in 100 ccm
11	3	—	0,0977	0,0126	0,0098
12	3	—	0,0952	0,0172	—
13	3	2	0,5945	0,1781	0,0182
14	3	2	0,5716	0,1782	0,0196
15	3	4	0,5991	0,1820	0,0280
16	3	4	0,6295	0,1795	0,0294
17	3	6	0,7109	0,1806	0,0391
18	3	6	0,7217	0,1830	0,0283
19	—	2	0,5418	0,1739	0,0238
20	—	2	0,5877	0,1761	0,0297
21	—	4	0,6391	0,1790	0,0280
22	—	4	0,5978	0,1739	0,0339
23	—	6	0,6842	0,1809	0,0532
24	—	6	0,6923	0,1770	0,0493

Verdauung von Casein.

Nr.	Magensaft- wirkung Stunden	Pankreatin- wirkung Stunden	Gesamt-N in g in 100 ccm	Amino-N in g in 100 ccm.	Drehung der Lösung
115	6	—	0,8005	0,0778	— 5,13°
116	6	—	0,7820	0,0611	— 4,88°
117	—	18	1,3021	—	— 3,63°
118	—	18	1,3021	0,2019	— 3,63°
119	6	18	1,2801	0,2904	— 3,41°
120	6	18	1,2819	0,3457	— 3,35°

Verdauung von Elastin.

Nr.	Magensaft- verdauung Tage	Pankreatin- verdauung Tage	Gesamt-N in g in 100 ccm	Amino-N in g in 100 ccm	Ammoniak-N in g in 100 ccm
39	3	—	0,1227	0,0339	0,0101
40	3	—	0,1891	0,0339	0,0042
41	3	2	0,4316	0,1161	0,0115
42	3	2	0,4828	0,0998	0,0073
43	3	4	0,5660	0,1587	0,0059
44	3	4	0,5758	0,1225	0,0042
45	3	6	0,6534	0,1416	0,0073
46	3	6	0,5845	0,1547	0,0087
47	—	2	0,4284	0,0852	0,0028
48	—	2	0,4368	0,0852	0,0042
53	—	4	0,4147	0,1083	0,0042
54	—	4	—	0,1169	0,0042
55	—	6	0,4363	0,1007	0,0059
56	—	6	0,5665	0,1287	0,0073

Nr.	Magensaft- wirkung Tage	Pankreatin- verdauung Tage	Gesamt-N in g in 100 ccm	Amino-N in g in 100 ccm	Ammoniak-N in g in 100 ccm
61	2	—	0,1093	0,0074	0,0059
62	2	—	0,1877	0,0074	0,0042
57	—	6	0,1891	0,0527	0,0087
58	—	6	0,1606	0,0487	0,0028
59	—	6	0,1404	0,0469	0,0073
60	—	6	0,1619	0,0469	0,0028
49	2	6	0,2707	0,0560	0,0073
50	2	6	0,0961	0,0594	0,0073
51	2	6	0,0930	0,0478	0,0115
52	2	6	0,0636	0,0478	0,0073

Nr.	Magensaft- wirkung Tage	Pankreatin- verdauung Tage	Gesamt-N in g in 100 ccm	Amino-N in g in 100 ccm	Drehung (α) der gekochten und filtrierten Lösung
69	2	—	0,1017	0,0142	— 0,53°
70	2	—	0,0801	0,0142	— 0,38°
71	3	2	0,5898	0,1003	— 0,80°
72	3	2	0,4419	0,0947	— 0,09°
73	3	4	0,5245	0,1502	— 0,64°
74	3	4	0,4926	0,0954	— 0,39°
75	3	6	0,5464	0,1470	— 0,62°
76	3	6	0,5884	0,1272	— 0,74°
77	—	2	0,4259	0,0676	— 0,48°
78	—	2	0,3752	0,0704	— 0,29°
79	—	4	0,5156	0,0985	— 0,62°
80	—	4	0,4556	0,0985	— 0,22°
81	—	6	0,4578	0,0702	— 0,36°
82	—	6	0,3284	0,0589	— 0,22°

III. Versuche mit Eiereiweiß.

Bei gleicher Versuchsanordnung, wie beim Casein, haben wir koaguliertes und genuines Eiereiweiß mit Magensaft resp. mit

Magensaft und Pankreatin und endlich mit Pankreatin allein verdaut. Wie die unten mitgeteilten Versuche ergeben, waren hier die Unterschiede recht erhebliche. Die günstige Wirkung des Magensaftes für die Pankreatinverdauung tritt sehr deutlich zutage. Offenbar werden durch das Pepsin die Eiweißmoleküle in zahlreiche Teile zerspalten, so daß das Trypsin dann eine viel größere Anzahl von Teilchen auf einmal angreifen kann. Es ist auch möglich, daß durch die Pepsinwirkung Abbaustufen entstehen, die das Trypsin besonders leicht zerlegen kann. Es sei noch bemerkt, daß bei den Versuchen mit Eiereiweiß nur jede Versuchsreihe in sich verglichen werden darf, dagegen sind die einzelnen Serien nicht unter einander vergleichbar, weil die angewandten Mengen Eiereiweiß verschiedene waren.

Verdauung von Eiereiweiß.

a) Hartgekochtes Eiereiweiß.

Nr.	Magensaft- wirkung Stunden	Pankreatin- verdauung Stunden	Gesamt-N in g in 100 ccm	Amino-N in g in 100 ccm	Ammoniak-N in g in 100 ccm
64	2	—	0,0560	0,0122	0,0044
67	—	6	0,1059	0,0375	0,0058
68	—	6	0,1059	0,0388	0,0044
65	2	6	0,1191	0,0389	0,0044
66	2	6	0,1160	0,0361	0,0028

Nr.	Magensaft- wirkung Stunden	Pankreatin- verdauung Stunden	Gesamt-N in g in 100 ccm	Amino-N in g in 100 ccm	Drehung der Lösung
121	6	—	0,1715	0,0150	— 0,62°
122	6	—	0,1760	0,0177	— 0,61°
123	—	18	0,1889	0,0417	+ 1,22°
124	—	18	0,1804	0,0417	+ 1,23°
125	6	18	0,2194	0,0702	+ 1,24°
126	6	18	0,2253	0,0717	+ 1,24°

b) Genuines Eiereiweiß (ungekocht).

Nr.	Magensaft- wirkung Stunden	Pankreatin- wirkung Stunden	Gesamt-N in g in 100 ccm	Amino-N in g in 100 ccm	Drehung der Lösung
83	2	—	0,3766	0,0232	-1,43°
84	2	—	0,3648	0,0317	-1,44°
85	—	6	0,4127	0,0511	+0,17°
86	—	6	—	0,0442	+0,20°
87	2	6	0,3926	0,1081	+0,68°
88	2	6	0,4049	0,0832	+0,66°

Nr.	Magensaft- wirkung Stunden	Pankreatin- wirkung Stunden	Gesamt-N in g in 100 ccm Lösung	Amino-N in g in 100 ccm Lösung	Drehung der Lösung
89	2	—	0,2398	0,0194	-0,94°
90	2	—	0,2906	0,0159	-1,12°
91	—	6	0,3648	0,0424	+0,61°
92	—	6	0,3752	0,0454	+0,62°
93	2	6	0,3315	0,1055	+0,63°
94	2	6	0,3388	0,0813	+0,72°

Nr.	Magensaft- wirkung Stunden	Pankreatin- wirkung Stunden	Gesamt-N in g in 100 ccm	Amino-N in g in 100 ccm	Drehung der Lösung
95	2	—	0,2586	0,0202	-0,98°
96	2	—	0,3169	0,0179	-1,01°
97	—	6	0,3444	0,0751	+0,79°
98	—	6	0,3836	0,0698	+0,77°
99	2	6	0,3968	0,0884	+0,82°
100	2	6	0,4158	0,0884	+0,81°

Nr.	Magensaft- wirkung Stunden	Pankreatin- wirkung Stunden	Gesamt-N in g in 100 ccm	Amino-N in g in 100 ccm	Drehung der Lösung
127	6	—	0,2964	0,0554	-1,19°
128	6	—	0,3057	0,0415	-1,23°
129	—	18	0,3648	0,0558	+0,55°
130	—	18	0,3763	0,0502	+0,55°
131	6	18	0,3735	0,0754	+0,77°
132	6	18	0,3547	0,0699	+0,73°

Eine weitere Fragestellung, die wir im Anschluß an frühere Versuche verfolgten, war: «Welchen Einfluß hat der physikalische Zustand bestimmter Proteine auf die Verdaubarkeit durch bestimmte Fermente? Wir gingen von Eiereiweiß aus, das wir teils im genuinen, teils in koaguliertem Zustande der Einwirkung von Magensaft und Pankreatin unterwarfen. Zu den einzelnen Versuchen wurden 10 ccm Eierweiß angewandt. Diese wurden entweder direkt mit Pankreatin verdaut oder nach vorausgegangener Koagulation. Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die erhaltenen Resultate. Sie zeigen, daß das koagulierte Eiweiß rascher abgebaut wurde als das genuine. Daß der Grad der Koagulation und die Teilchengröße des koagulierten Eiweißes auch von großer Bedeutung sind, darauf ist in früheren Arbeiten bereits hingewiesen worden.

Zu den mitgeteilten Versuchen ist zu bemerken, daß sie nur einen Teil der durchgeführten Untersuchungen wiedergeben. Große Versuchsreihen sind nach van Slyke auf Aminostickstoff untersucht worden. Die Resultate waren durchwegs die gleichen, nur ergaben sich in manchen Fällen viel bedeutendere Unterschiede zwischen dem Gesamtstickstoff, dem Aminostickstoff und dem Drehungsvermögen. Scheinbar gleichsinnig verlaufene Versuche zeigten dann doch im einen oder anderen Punkte erhebliche Unterschiede. Wir glauben, daß die mitgeteilten Versuche genügen, um unsere Forderung zu begründen, daß bei allen vergleichenden Abbauversuchen kompliziert gebauter Substanzen möglichst vielseitige Untersuchungsmethoden und Bestimmungen eingreifen müssen, sollen nicht die Resultate an Wert einbüßen. Schon unsere einfachen Verdauungsversuche ergaben Stickstoffwerte, die sich nahe standen, während die Bestimmung des Aminostickstoffs große Unterschiede aufdeckte. Bei der Autolyse liegen die Verhältnisse außerordentlich viel komplizierter, weil ein viel mannigfaltigeres Substratgemisch und eine Fülle von Fermenten in Betracht kommen.

Verdauung von Hühnereiweiß mit Pankreatin.

18 Stunden. 10 ccm frisches Eiweiß.

Nr.	Gesamt-N in g in 100 ccm	Amino-N in g in 100 ccm	Drehung der Lösung
I. Unkoaguliertes Eiweiß.			
145	0,4857	0,0755	+ 0,95°
146	0,4843	0,0819	+ 0,98°
155	0,4396	0,0793	+ 0,88°
II. Koaguliertes Eiweiß (leicht koaguliert, 15 Minuten bei 80°. Koagulum zerkleinert.			
147	0,4454	0,1151	+ 1,12°
148	0,4497	0,1112	+ 1,10°
157	0,4439	0,1262	+ 1,10°
III. Koaguliertes Eiweiß (hart koaguliert, 5 Minuten bei 100°. Zerkleinert.			
156	0,2637	0,1112	+ 1,33°
IV. Koaguliertes Eiweiß (hart, wie in Vers. 156. In einer Schicht gelassen).			
158	0,1369	0,0520	+ 1,71°