

# Weitere Untersuchungen über die Einwirkung von Pepsin-HCl auf teilweise trypsinverdaute Proteine.

Von

V. Henriques und J. K. Gjaldbæk.

(Der Redaktion zugegangen am 7. Dezember 1912.)

Im 75. Band dieser Zeitschrift berichteten wir über einige Versuche über die Einwirkung von Pepsin-HCl auf einige teilweise trypsinverdaute Proteine. Der Grund dazu, daß wir diese Versuche anstellten, war, daß wir bei einer Formoltitrierung in 4 Stadien von bzw. mit Pepsin und Trypsin verdauten Proteinlösungen einen ausgeprägten Unterschied der Wirkungsweise der beiden Fermente vorgefunden hatten, indem das Verhältnis zwischen dem 1. und dem 4. Stadium<sup>1)</sup> der Titrierung sich als ganz verschieden herausstellte, je nachdem ein peptisches Spaltungsprodukt oder ein tryptisches Spaltungsprodukt desselben Proteins vorlag, wenn die beiden Spaltungsprodukte auch dieselbe Menge formoltitierbaren Stickstoffs enthielten. Der Unterschied war nicht gleich groß bei allen untersuchten Proteinen; er war sehr groß bei Hühnereiweiß, kleiner bei Casein und bestand darin, daß das 1. Stadium der Titrierung bei der Pepsinverdauung größer war als bei der Trypsinverdauung (d. h. daß das Verhältnis  $1 - (4 \div k)$  bei der Pepsinverdauung enger war als bei der Trypsinverdauung). Die Erklärung dieses eigentümlichen Verhältnisses ist darin zu suchen, daß die Pepsinverdauung besonders eine Spaltung des Proteins in Polypeptide bewirkt, während das Trypsin bewirkt, daß dem Proteinmolekül sofort Aminosäuren abgespalten werden. Polypeptide weisen nämlich bei Formoltitrierung in 4 Stadien ein sehr großes 1. Stadium auf, während bei den Aminosäuren das Entgegengesetzte der Fall ist.

<sup>1)</sup> Dies Verhältnis wird durch  $1 - (4 \div k)$  bezeichnet, wo 1 den Titer des 1. Stadiums, 4 den Titer des 4. Stadiums und k die Kontrolle bei der Formoltitrierung bezeichnen.

Die untenstehenden Versuche wurden angestellt, um zu untersuchen, ob das Verhältnis  $1 - (4 \div k)$ , das bei einem tryptischen Spaltungsprodukt weit ist, durch die Einwirkung von Pepsin-HCl enger wird, sowie um darüber Klarheit zu gewinnen, wie stark ein Protein mit Trypsin verdaut werden soll, um sich von Pepsin-HCl nicht beeinflussen zu lassen.

Aus den früher mitgeteilten Versuchen ging hervor, daß Pepsin-HCl durch Einwirkung auf tryptische Spaltungsprodukte verschiedener Proteine mit Spaltungsgraden von 38—50% formoltitrierbaren<sup>1)</sup> N's eine Spaltung erzeugte, die nach 1 Monat von 2,6—7,6% formoltitrierbaren N betrug. Bei den Versuchen mit Hühnereiweiß fand die Spaltung hauptsächlich am 1. Tage statt; bei den übrigen Versuchen dagegen geschah die Spaltung langsamer und gleichmäßig zunehmend, so daß sie annehmbar ausschließlich von der Salzsäure herrühren mochte.

Zur näheren Aufklärung der Frage stellten wir gleichzeitig mit jedem Verdauungsversuch einen Kontrollversuch mit inaktiviertem Pepsin an, um die Säurewirkung zu kontrollieren. Das Untersuchungsverfahren war übrigens ganz dasselbe wie in unseren früheren Mitteilungen angegeben, und außer Formoltitrierung in 4 Stadien wurden auch hier Ammoniakbestimmungen angestellt.

Zu den Versuchen verwendeten wir 1.: teilweise trypsinverdautes Hühnereiweiß, das, wie früher erwähnt, sehr stark von pepsinverdaulichem Hühnereiweiß desselben Spaltungsgrades abweicht, und 2.: teilweise trypsinverdautes Casein, das zwar von pepsinverdaulichem Casein desselben Spaltungsgrades abweicht, aber nicht annäherungsweise so stark, wie es mit dem Hühnereiweiß der Fall ist.

Die Versuchsergebnisse verzeichnen wir unten; die Bedeutung der Zahlen erhellt aus den Tabellen selbst. Die Wasserstoffionkonzentrationsbestimmungen geschahen kolorimetrisch, wie von S. P. L. Sørensen angegeben.<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Die Pepsin-HCl-Spaltung selbst gelangt, auch nach langwieriger Verdauung bei wiederholtem Pepsinzusatz, nicht weiter als bis zu einem Spaltungsgrad von 35—38% formoltitrierbaren N's.

<sup>2)</sup> S. P. L. Sørensen, Biochem. Zeitschr., Bd. 22.

## Versuche mit teilweise trypsinverdaulichem Hühnereiweiß.

 Tabelle I. Trypsinverdautes Hühnereiweiß  
 (21,5% formoltitrierbaren N's).

	Total-N in 5 ccm mg N	Am- moniak in 25 ccm mg N	P <sub>H</sub>	Formoltitrierung in 25 ccm ccm k = 0,1 ccm				1 — (4 ÷ k)	
				<sup>1</sup> / <sub>5</sub> -n-NaOH		<sup>1</sup> / <sub>5</sub> -n-NaOH			
				1	2	3	4		
Aktives Pepsin	Sogleich bestimmt	11,90	1,00	10 ÷ 1,5	1,00	1,80	4,50	4,70	1—4,6
	1 tägliches Stehen bei 37°		1,00		1,65	2,40	5,80	6,00	
	2 „ „ „ 37°		1,20		1,70	2,60	6,00	6,20	
	4 „ „ „ 37°		1,60		1,60	2,50	6,20	6,45	
	8 „ „ „ 37°		1,70		1,65	2,45	6,45	6,70	
	16 „ „ „ 37°		2,30		1,90	2,80	7,10	7,30	
35 „ „ „ 37°	12,00	2,80		1,85	2,70	7,50	7,80	1—4,2	
Inaktives Pepsin	Sogleich bestimmt	12,00	0,80	(10 ÷ 1,9)	1,00	1,80	4,50	4,70	1—4,6
	1 tägliches Stehen bei 37°		0,90		1,10	1,75	4,50	4,70	
	2 „ „ „ 37°		0,90		1,00	1,90	4,40	4,65	
	4 „ „ „ 37°		1,20		0,95	1,80	4,50	4,80	
	8 „ „ „ 37°		1,10		0,90	1,70	4,40	4,85	
	16 „ „ „ 37°		1,50		1,05	1,90	4,60	4,85	
35 „ „ „ 37°	11,90	2,0		1,10	1,80	5,00	5,30	1—4,7	

 Tabelle II. Trypsinverdautes Hühnereiweiß  
 (30,8% formoltitrierbaren N's).

	Total- in 5 ccm mg N	Am- moniak in 25 ccm mg N	P <sub>H</sub>	Formoltitrierung in 25 ccm ccm k = 0,1 ccm				1 — (4 ÷ k)	
				<sup>1</sup> / <sub>5</sub> -n-NaOH		<sup>1</sup> / <sub>5</sub> -n-NaOH			
				1	2	3	4		
Aktives Pepsin	Sogleich bestimmt	13,30	0,80	10 ÷ 1,7	1,30	2,40	7,10	7,35	1—5,6
	1 tägliches Stehen bei 37°		1,10	10 ÷ 1,7	1,90	2,60	8,20	8,50	
	2 „ „ „ 37°		1,30		2,05	3,20	8,40	8,70	
	4 „ „ „ 37°		1,50		1,80	2,85	8,50	8,95	
	8 „ „ „ 37°		1,80		1,70	2,60	8,60	8,90	
	16 „ „ „ 37°		2,30		1,90	2,95	9,10	9,45	
35 „ „ „ 37°	13,10	2,80		2,00	2,90	9,50	9,80	1—4,9	
Inaktives Pepsin	Sogleich bestimmt	13,2	0,80	10 ÷ 1,8	1,30	2,40	7,10	7,35	1—5,6
	1 tägliches Stehen bei 37°		1,00	10 ÷ 2,0	1,40	2,30	7,05	7,40	
	2 „ „ „ 37°		1,30		1,40	2,80	7,00	7,35	
	4 „ „ „ 37°		1,30		1,30	2,60	7,00	7,35	
	8 „ „ „ 37°		1,50		1,10	2,50	6,90	7,40	
	16 „ „ „ 37°		1,70		1,20	2,40	7,20	7,60	
35 „ „ „ 37°	13,3	2,20		1,40	2,50	7,45	7,80	1—5,6	

Tabelle III. Trypsinverdautes Hühnereiweiß  
(38,2% formoltitrierbaren N's).

	Total-N in 5 ccm mg N	Am- moniak in 25 ccm mg N	P <sub>H</sub>	Formoltitrierung in 25 ccm ccm k = 0,1 ccm				1 — (4 ÷ k)	
				<sup>1</sup> / <sub>5</sub> -n-NaOH		<sup>1</sup> / <sub>5</sub> -n-NaOH			
				1	2	3	4		
Aktives Pepsin	Sogleich bestimmt	13,3	1,40	10 ÷ 1,7	1,70	3,00	8,70	9,10	1—5,3
	1 tägliches Stehen bei 37°		—		2,00	3,20	9,80	10,05	
	2 „ „ „ 37°		1,60		1,90	3,20	9,80	10,20	
	4 „ „ „ 37°		1,80		1,90	3,00	9,95	10,30	
	8 „ „ „ 37°		1,90		1,90	2,70	10,00	10,40	
	16 „ „ „ 37°		2,30		2,05	3,20	10,60	10,90	
35 „ „ „ 37°	13,2	2,60	2,10	3,10	10,90	11,20	1—5,3		
Inaktives Pepsin	Sogleich bestimmt	13,1	1,00	10 ÷ 2,1	1,70	3,05	8,70	9,10	1—5,3
	1 tägliches Stehen bei 37°		1,20		1,60	2,90	8,70	9,00	
	2 „ „ „ 37°		1,50		1,60	2,90	8,70	9,10	
	4 „ „ „ 37°		1,60		1,50	3,00	8,70	9,00	
	8 „ „ „ 37°		1,70		1,50	3,20	8,60	9,05	
	16 „ „ „ 37°		1,90		1,50	3,10	8,90	9,30	
35 „ „ „ 37°	13,3	2,30	1,50	(2,60)	9,15	9,45	1—6,2		

Tabelle IV. Trypsinverdautes Hühnereiweiß  
(52,1% formoltitrierbaren N's).

	Total-N in 5 ccm mg N	Am- moniak in 25 ccm mg N	P <sub>H</sub>	Formoltitrierung in 25 ccm ccm k = 0,1 ccm				1 — (4 ÷ k)	
				<sup>1</sup> / <sub>5</sub> -n-NaOH		<sup>1</sup> / <sub>5</sub> -n-NaOH			
				1	2	3	4		
Aktives Pepsin	Sogleich bestimmt	13,6	(1,40)	10 ÷ 2,0	1,40	2,90	12,35	12,75	1—9,1
	1 tägliches Stehen bei 37°		1,90		1,50	2,50	12,50	13,00	
	2 „ „ „ 37°		2,00		1,40	2,50	12,50	13,10	
	4 „ „ „ 37°		2,40		1,40	2,70	12,81	13,25	
	8 „ „ „ 37°		2,40		1,60	2,65	12,80	13,40	
	16 „ „ „ 37°		2,40		1,70	3,00	13,10	13,70	
35 „ „ „ 37°	13,7	2,80	2,00	3,60	13,40	13,90	1—6,9		
Inaktives Pepsin	Sogleich bestimmt	13,6	1,80	10 ÷ 2,0	1,25	2,90	12,10	12,70	1—10,1
	1 tägliches Stehen bei 37°		1,90		1,50	(3,40)	12,20	12,65	
	2 „ „ „ 37°		2,00		1,30	2,50	12,00	12,60	
	4 „ „ „ 37°		2,20		1,30	2,45	12,00	12,50	
	8 „ „ „ 37°		2,30		1,50	2,80	12,10	12,65	
	16 „ „ „ 37°		2,20		1,20	2,80	12,20	12,80	
35 „ „ „ 37°	13,8	2,80	1,70	3,60	12,50	12,95	1—7,6		

Tabelle V. Trypsinverdautes Hühnereiweiß  
(63,7% formoltitrierbaren N's).

	Total-N in 5 ccm mg N	Am- moniak in 25 ccm mg N	P <sub>H</sub>	Formoltitrierung in 25 ccm k = 0,1 ccm				1 — (4 ÷ k)	
				<sup>1</sup> / <sub>5</sub> -n-NaOH		<sup>1</sup> / <sub>5</sub> -n-NaOH			
				1	2	3	4		
Aktives Pepsin	Sogleich bestimmt	13,80	(1,60)	10 ÷ 2,0	1,40	2,90	15,00	15,80	1—11,2
	1 tägiges Stehen bei 37°		2,60		1,40	2,30	15,10	15,60	
	2 » » » 37°		2,50		1,30	2,20	15,05	15,70	
	4 » » » 37°		2,50		1,30	2,40	15,10	15,80	
	8 » » » 37°		2,60		1,40	2,40	15,20	15,80	
	16 » » » 37°		2,60		1,50	2,80	15,40	16,10	
	35 » » » 37°	13,70	3,00		1,70	3,60	15,80	16,30	
Inaktives Pepsin	Sogleich bestimmt	13,80	2,0	10 ÷ 2,0	1,3	2,90	15,00	15,75	1—12,6
	1 tägiges Stehen bei 37°		2,30		1,35	2,85	15,10	15,80	
	2 » » » 37°		2,30		1,25	2,30	14,90	15,60	
	4 » » » 37°		2,50		1,30	2,60	15,00	15,85	
	8 » » » 37°		2,60		1,30	2,40	15,10	15,70	
	16 » » » 37°		2,50		1,30	2,90	15,10	15,90	
	35 » » » 37°	13,80	3,00		1,70	3,70	15,80	16,30	

Bei den Versuchen der Tab. I und II wurde trypsinverdautes Hühnereiweiß eines Spaltungsgrades von bezw. 21,5% und 30,8% formoltitrierbarem N verwendet. Da Pepsin-HCl selbst imstande ist, Hühnereiweiß bis zu einem Spaltungsgrad von ca. 38% zu spalten, muß man hier naturgemäß eine Spaltung vorzufinden erwarten, wie die Versuche sie auch aufweisen. Die Spaltung beträgt bei Versuch I nach 1 Tag 1,3, nach 35 Tagen 2,9 ccm <sup>1</sup>/<sub>5</sub> n-NaOH, was in formoltitrierbarem N umgesetzt (durch Multiplikation mit 2,8) 3,6 und 7,9 mg formoltitrierbarem N entspricht. Die entsprechenden Zahlen von Versuch II nach 1 und 35 Tagen sind nach der Tabelle 3,2 und 6,9 mg formoltitrierbaren N's. Die Steigerung ist, wie auch zu erwarten war, am größten bei dem am wenigsten gespaltenen Produkt. Die Kontrollversuche weisen nach 1 Tage keine Spaltung, nach 35 Tagen eine geringe Spaltung auf: Versuch I 1,7 mg, Versuch II 1,3 mg formoltitrierbaren N's. Die Versuche zeigen also eine deutliche Pepsinwirkung.

Das Verhältnis 1 — (4 ÷ k) ergibt sich bei beiden Versuchen als enger werdend; bei Versuch I ändert es sich von

1—4,6 in 1—4,2, bei Versuch II von 1—5,6 in 1—4,9. Bei den Kontrollversuchen bleibt  $1 - (4 \div k)$  unverändert. Die Veränderung des Verhältnisses  $1 - (4 \div k)$  ist leicht erklärlich von der Annahme aus, daß das Trypsin sofort dem Protein ein Teil freier Aminosäuren abspaltet; es werden dann ein großes oder vielleicht mehrere große Moleküle übrig sein, und die Wirkung der Pepsin-Salzsäure muß dann sein, daß sie die großen Moleküle in Polypeptide spaltet; in diesen ist  $1 - (4 \div k)$  sehr eng, und das Verhältnis  $1 - (4 \div k)$  in einem teilweise trypsinverdauten Protein muß somit durch die Einwirkung von Pepsin-HCl enger werden.

Das Ammoniak steigert sich sowohl bei den Versuchen mit aktivem als mit inaktivem Pepsin, doch etwas stärker beim Versuch mit aktivem Pepsin, wo die Vermehrung des formoltitrierbaren N's auch am größten ist, als beim Versuch mit inaktivem Pepsin; die Ammoniakspaltung ist somit zum wesentlichen Teil durch die Salzsäure bedingt.

Die Ammoniakzunahme der Versuche mit inaktivem Pepsin beträgt bei Versuch I 1,2 mg N, bei Versuch II 1,4 mg N nach 35 Tagen, was, wie man sieht, nahezu der geringen Vermehrung des formoltitrierbaren N entspricht, die diese Versuche aufwiesen, nämlich 1,7 und 1,3 mg N.

Beim Versuch der Tabelle III wurde trypsinverdautes Hühnereiweiß eines Spaltungsgrades von 38,2% formoltitrierbarem N verwendet. Es findet auch hier eine Spaltung statt; diese beträgt beim Versuch mit aktivem Pepsin 2,7 und 5,9 mg N nach bzw. 1 und 35 Tagen. Beim Kontrollversuch mit inaktivem Pepsin beträgt die Spaltung nach 35 Tagen 1 mg N; es liegt somit eine deutliche Pepsinwirkung vor. Der Umstand, daß bei diesem Versuch eine Spaltung vorkommt, gibt in Verbindung mit dem früher besprochenen Unterschied von  $1 - (4 \div k)$  bei einem peptischen und einem tryptischen Spaltungsprodukt einen Beweis davon ab, daß das Trypsin das Proteinmolekül in anderer Weise angreift als das Pepsin; denn bei einer sehr langwierigen Pepsinverdauung bei wiederholtem Zusatz von Pepsin gelangt die Spaltung nicht weiter als bis zu 38% formoltitrierbarem N; aus obenstehendem geht aber hervor, daß ein tryptisches Spal-

tungsprodukt dieses Spaltungsgrades von Pepsin angegriffen wird. Das Verhältnis  $1 - (4 \div k)$  hält sich bei Versuch III nahezu unverändert. Das Ammoniak steigert sich sowohl beim Versuch mit aktivem als bei inaktivem Pepsin, und die Steigerung ist als die gleiche zu bezeichnen; sie beträgt beim Versuch mit inaktivem Pepsin 1,3 mg N, welche Größe sehr nahezu mit der Steigerung an formoltitrierbarem N zusammenfällt, die dieser Versuch aufwies.

Beim Versuch der Tabelle IV wurde trypsinverdautes Hühnereiweiß des Spaltungsgrades 52,1% verwendet, was also eine bedeutend stärkere Spaltung ist, als das Pepsin selbst bewirken kann; nichtsdestoweniger zeigt es sich, daß das Pepsin dies Spaltungsprodukt angreifen kann; aus den Tabellen sieht man, daß die Spaltung beim Versuch mit aktivem Pepsin 3,2 mg N, die Spaltung beim Kontrollversuch aber nur 0,7 mg N beträgt. Das Verhältnis  $1 - (4 \div k)$  wird enger, und hier wie bei den vorhergehenden Versuchen entspricht die Ammoniaksteigerung sehr nahezu der Steigerung an formoltitrierbarem N des Kontrollversuches mit inaktivem Pepsin.

Beim Versuch der Tabelle V wurde trypsinverdautes Hühnereiweiß eines Spaltungsgrades von 63,7% formoltitrierbarem N verwendet. Die Versuche mit aktivem und inaktivem Pepsin weisen hier ganz dieselben Veränderungen auf, und das Pepsin hat also keine Wirkung auf ein so stark trypsinverdautes Protein. Die Steigerung an formoltitrierbarem N beträgt nach 35 Tagen 1,4 mg und entspricht also sehr nahe der 1 mg N betragenden Steigerung an Ammoniak.

#### Versuche mit teilweise trypsinverdaulichem Casein.

Beim Versuch der Tabelle VI wurde trypsinverdautes Casein eines Spaltungsgrades von 33% formoltitrierbarem N verwendet. Da Pepsin-HCl selbst imstande ist, Casein bis zu einem Spaltungsgrad von ca. 38% formoltitrierbarem N zu spalten, muß man hier eine Pepsinspaltung erwarten, wie der Versuch sie auch aufweist, indem die Spaltung beim Versuch mit aktivem Pepsin nach 35 Tagen 5,5 mg N, die Spaltung beim Kontrollversuch nach derselben Zeit aber nur 4,1 mg N

Tabelle VI. Trypsinverdautes Casein

(33% formoltitrierbaren N's).

	Total-N in 5 ccm mg N	Am- moniak in 25 ccm mg N	P <sub>H</sub>	Formoltitrierung in 25 ccm ccm k = 0,1 ccm				1 — (4 ÷ k)	
				<sup>1</sup> / <sub>5</sub> -n-NaOH		<sup>1</sup> / <sub>5</sub> -n-NaOH			
				1	2	3	4		
Aktives Pepsin	Sogleich bestimmt	14,1	0,90	10 ÷ 1,6	2,50	3,50	8,10	8,40	1—3,3
	1tägiges Stehen bei 37°		1,70		2,55	3,50	8,35	8,65	
	2 „ „ „ 37°		2,20		2,30	3,50	8,30	8,70	
	4 „ „ „ 37°		2,70		2,30	3,30	8,65	8,90	
	8 „ „ „ 37°		3,10		2,50	3,50	9,00	9,30	
	16 „ „ „ 37°		3,80		2,40	3,70	9,20	9,60	
35 „ „ „ 37°	14,0	4,60		3,70	4,10	10,00	10,35	1—3,8	
Inaktives Pepsin	Sogleich bestimmt	13,9	0,80	10 ÷ 1,6	2,45	3,50	8,00	8,35	1—3,4
	1tägiges Stehen bei 37°		1,70		2,30	3,35	8,05	8,30	
	2 „ „ „ 37°		2,20		2,10	3,20	7,90	8,30	
	4 „ „ „ 37°		2,70		2,25	3,20	8,30	8,60	
	8 „ „ „ 37°		3,00		2,30	3,40	8,60	8,90	
	16 „ „ „ 37°		3,60		2,30	3,50	8,90	9,20	
35 „ „ „ 37°	14,10	4,50		2,60	4,10	9,40	9,80	1—3,8	

Tabelle VII. Trypsinverdautes Casein

(40% formoltitrierbaren N's).

	Total-N in 5 ccm mg N	Am- moniak in 25 ccm mg N	P <sub>H</sub>	Formoltitrierung in 25 ccm ccm k = 0,1 ccm				1 — (4 ÷ k)	
				<sup>1</sup> / <sub>5</sub> -n-NaOH		<sup>1</sup> / <sub>5</sub> -n-NaOH			
				1	2	3	4		
Aktives Pepsin	Sogleich bestimmt	14,00	1,30	10 ÷ 1,6	2,20	3,60	9,60	10,10	1—4,5
	1tägiges Stehen bei 37°		2,20		2,10	3,50	9,60	10,10	
	2 „ „ „ 37°		2,60		2,15	3,60	9,70	10,15	
	4 „ „ „ 37°		3,10		2,10	3,20	9,70	10,10	
	8 „ „ „ 37°		3,20		2,20	3,50	10,10	10,40	
	16 „ „ „ 37°		3,90		2,10	3,30	10,10	10,45	
32 „ „ „ 37°		4,90	2,30	3,50	10,50	10,90	1—4,7		
Inaktives Pepsin	Sogleich bestimmt	13,90	1,40	10 ÷ 1,8	2,30	3,60	9,60	10,05	1—4,3
	1tägiges Stehen bei 37°		2,30		2,30	3,60	9,60	10,00	
	2 „ „ „ 37°		2,80		2,30	3,60	9,70	10,10	
	4 „ „ „ 37°		3,00		2,30	3,40	9,70	10,10	
	8 „ „ „ 37°		3,40		2,25	3,60	10,00	10,30	
	16 „ „ „ 37°		3,80		2,30	3,80	10,00	10,40	
32 „ „ „ 37°		5,00	2,40	3,90	10,40	10,75	1—4,5		



Tabelle VIII. Trypsinverdautes Casein  
(44% formoltitrierbarer N's).

	Total-N in 5 ccm mg N	Am- moniak in 25 ccm mg N	P <sub>H</sub>	Formoltitrierung in 25 ccm ccm k = 0,1 ccm				1 — (4 ÷ k)	
				<sup>1</sup> / <sub>5</sub> -n-NaOH		<sup>1</sup> / <sub>10</sub> -n-NaOH			
				1	2	3	4		
Aktives Pepsin	Sogleich bestimmt	14,00	2,50	10 ÷ 1,9	2,20	3,60	10,70	11,10	1—5,0
	1 tägliches Stehen bei 37°		2,30		2,30	3,50	10,80	11,20	
	2 » » » 37°		3,30		2,30	3,60	10,80	11,20	
	4 » » » 37°		3,40		2,20	3,60	11,00	11,40	
	8 » » » 37°		3,80		2,30	3,40	11,20	11,50	
	16 » » » 37°		4,00		2,30	3,50	11,20	11,50	
	32 » » » 37°		5,00		2,40	—	11,50	11,90	
Inaktives Pepsin	Sogleich bestimmt	14,10	2,60	10 ÷ 1,8	2,20	3,60	10,70	11,10	1—5,0
	1 tägliches Stehen bei 37°		3,00		2,10	3,40	10,80	11,20	
	2 » » » 37°		3,30		2,30	3,60	10,70	11,10	
	4 » » » 37°		3,40		2,30	3,70	10,90	11,30	
	8 » » » 37°		3,80		2,30	3,40	10,90	11,30	
	16 » » » 37°		4,00		2,30	3,60	11,10	11,40	
	32 » » » 37°		5,15		2,50	4,30	11,40	11,80	

beträgt. Aus den Zahlen des Kontrollversuches geht hervor, daß die Säurespaltung recht bedeutend ist; dennoch ist die Pepsinspaltung deutlich. Die Steigerung an Ammoniak beträgt 4,7 mg N und stellt hier, wie bei den Versuchen mit Hühner-eiweiß, wahrscheinlich die Säurespaltung dar. Das Verhältnis 1 — (4 ÷ k) wird im Gegensatz zu dem, was man erwarten sollte, weiter. Dies rührt sicherlich von der großen Ammoniakspaltung her, indem das Ammoniak bei einer Formoltitrierung in Stadien, wie die Aminosäuren, ein sehr kurzes 1. Stadium aufweist. Ein Vergleich des Versuches VI mit den Versuchen mit teilweise trypsinverdaulichem Hühner-eiweiß zeigt, daß dieser Versuch zunächst dem Versuch IV entspricht, wo trypsin-verdautes Hühner-eiweiß eines Spaltungsgrades von 52,1% formoltitrierbarem N angewendet wurde.

Bei den Versuchen VII und VIII wurde trypsinverdautes Casein von Spaltungsgraden von bezw. 40 und 44% formoltitrierbarem N verwendet; diese Versuche entsprechen zunächst dem Versuch mit 63,7% formoltitrierbarem Hühner-eiweiß (Ver-

such V), indem sowohl die Steigerung an formoltitrierbarem N als die an Ammoniak-N die gleiche ist in den Versuchen mit aktivem und inaktivem Pepsin; die Veränderung rührt also ausschließlich von einer Säurewirkung her. Die Steigerung an Ammoniak ist etwas größer als die an formoltitrierbarem N, und das Verhältnis  $1 - (4 \div k)$  hält sich konstant.

Das Ergebnis der angestellten Versuche ist also, daß teilweise trypsinverdautes Hühnereiweiß und teilweise trypsinverdautes Casein sich einer Einwirkung von Pepsin-HCl gegenüber etwas verschieden verhalten, und zwar so, daß teilweise trypsinverdautes Hühnereiweiß sich mehr durch Pepsin-HCl beeinflussen läßt. Dies stimmt gut damit überein, daß das Verhältnis  $1 - (4 \div k)$  einen sehr großen Unterschied zwischen pepsinverdaulichem und trypsinverdaulichem Hühnereiweiß desselben Spaltungsgrades erkennen läßt, während dies Verhältnis keinen annäherungsweise so ausgeprägten Unterschied zwischen pepsinverdaulichem und trypsinverdaulichem Casein aufweist.

Pepsin-HCl kann sowohl Hühnereiweiß als Casein bis zu einem Spaltungsgrad von ca. 38% spalten, aber während man Hühnereiweiß mit Trypsin bis zu einem Spaltungsgrad von ca. 63% formoltitrierbarem N spalten muß, bevor es sich nicht von Pepsin beeinflussen läßt, so braucht Casein nur bis zu einem Spaltungsgrad von ca. 40% formoltitrierbarem N gespalten zu werden, um sich nicht von Pepsin beeinflussen zu lassen.

Das Verhältnis  $1 - (4 \div k)$  weist die typische Pepsinwirkung auf, wenn Pepsin-HCl auf trypsinverdautes Hühnereiweiß eines Spaltungsgrades von 20—30% formoltitrierbarem N einwirkt.