Über die fermentative Hydroperoxydzersetzung.

IV. Mitteilung.

Von

Percy Waentig und Otto Steche.

(Mitteilung aus dem Laboratorium für angewandte Chemie der Universität Leipzig.)
(Der Redaktion zugegangen am 11. Januar 1913.)

I. Einleitung.

Über die chemische Natur der wirksamen Stoffe, die in gewissen, aus pflanzlichen und tierischen Organen herstellbaren Extrakten, die Zersetzung von Hydroperoxyd bedingen und die man einstweilen unter dem Namen Katalase zusammengefaßt hat, sind bisher nur Vermutungen möglich gewesen. Wegen der ungenügenden Methoden für eine Reindarstellung der Katalase, welche eine Analyse erschweren, ist man auf indirekte Verfahrung angewiesen. O. Loew,¹) der zuerst von der Katalase als einem selbständigen Ferment gesprochen hat, vermutet, daß es sich wenigstens bei den pflanzlichen Extrakten um Eiweißkörper handelt und zwar um ein unlösliches Nucleoproteid (α-Katalase) und eine lösliche Albumose (β-Katalase), die in einem genetischen Zusammenhang in der Weise stehen sollen, daß die β-Katalase von der α-Katalase bei höherer Temperatur durch verdünntes Alkali abgespalten werden kann.

Die Albumosenatur der β-Katalase wird aus der Tatsache geschlossen, daß sie sich nicht wie koagulierbares Albumin verhält, durch gesättigte Ammoniumsulfatlösung aussalzbar ist und in Wasser sich löst, während die α-Katalase nur von verdünntem Alkali gelöst wird und aus diesen Lösungen durch verdünnte Essigsäure ausgefällt werden kann. Diese Befunde sind speziell an wässerigen bezw. alkalischen Extrakten aus Tabakblättern gemacht worden. Die Ansicht von einer Zweiheit der Katalase

¹⁾ Bulletin of the U. S. Departement of Agriculture, Washington, Report Nr. 68, 1901.

vertritt auch Jorns,1) der mit Katalase aus niederen Pilzen gearbeitet hat, ohne allerdings etwas anderes für diese Ansicht beibringen zu können, als daß die Trennung der Katalase von den festen Zellbestandteilen der Bakterien nur teilweise gelingt. Für die tierischen Katalasen ist eine solche Doppelnatur nicht angenommen worden. Die Blutkatalase nach Senter befindet sich zwar höchst wahrscheinlich in den roten Blutkörperchen, hat jedoch nichts mit dem Hämoglobin zu tun, da sich durch einfache Fällung mit Alkohol völlig eisenfreie, stark aktive Lösungen erhalten lassen.2) Euler3) gelang es, durch fortgesetzte Reinigung von Fettkatalase den Stickstoffgehalt bis auf 6,2% N herunterzusetzen. Die Lösungen dieser Katalase zeigten nur noch die Millonsche und Molischsche Probe. zieht daraus den Schluß, daß die Katalase nicht den eigentlichen Eiweißkörpern zugerechnet werden könnte, doch hält er selbst die Angelegenheit nicht für erledigt, da Bach, der ebenfalls Fettkatalase untersucht hat, entgegengesetzter Ansicht ist.

Durch unsere Arbeiten über die Kinetik der fermentativen Hydroperoxydzersetzung⁴) ist die kolloidale Natur der Katalase durchaus wahrscheinlich geworden. Die Undialysierbarkeit des aktiven Stoffes durch tierische Membranen, die wichtige Rolle, welche Adsorptionsvorgänge bei der Wirkung der Katalase spielen, sprechen durchaus für eine solche Auffassung. Vieles deutet sogar darauf hin, daß in den aktiven Extrakten kolloidale Lösungen eines Eiweißkörpers vorliegen. So läßt sich die Empfindlichkeit des aktiven Stoffes gegen Säuren und Alkalien, gegen erhöhte Temperatur leicht als diejenige eines hitzekoagulierbaren, amphoteren Eiweißkörpers ansehen. Die fast immer eintretende Schädigung der Katalase durch Dialyse und die gelegentlich beobachtete Schwächung der Aktivität durch bloße Verdünnung lassen sich leicht zu dem Verhalten von Globulinsalzlösungen in Beziehung bringen.

¹⁾ Arch. f. Hyg., Bd. 67, S. 134 (1908).

^{*)} Zeitschrift f. physikal. Chem., Bd. 44, S. 257 (1905).

³⁾ Hofmeisters Beitr., Bd. 7, S. 1 (1906).

⁴⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 72, S. 226 (1911); ferner daselbst, Bd. 76, S. 177 (1912) und Bd. 79, S. 446 (1912).

Dagegen darf man nicht verkennen, daß die Reinigungsmethoden der Extrakte durchaus nicht geeignet sind, den aktiven Stoff von Eiweiß oder eiweißartigen Verunreinigungen zu befreien, und daß es deshalb durchaus nicht verwunderlich ist, eiweißähnliches Verhalten auch in den sogenannten gereinigten Extrakten vorzufinden, wenn man nur annimmt, daß der aktive Stoff von den Eiweißkörpern durch chemische oder adsorptive Bindung festgehalten wird. Die Bedeutung fremder Eiweißstoffe für die Eigenschaften fermenthaltiger Körper ist gerade kürzlich für die Hämolysine usw.1) erwiesen worden. Wirkt z. B. der Eiweißfremdkörper als Schutzkolloid für den aktiven Körper, so wird der letztere in bezug auf die Löslichkeitsverhältnisse und den Lösungszustand scheinbar die Eigenschaften des inaktiven Stoffes annehmen.2) Spricht daher also manches für die Eiweißnatur der Katalase, so kann sie doch nach den bisherigen Feststellungen keineswegs als erwiesen betrachtet werden.

Anderseits erscheint eine Erforschung der chemischen Natur der Katalase durchaus wünschenswert, denn nur auf diesem Wege scheint es möglich zu sein, weiter in den Chemismus dieser relativ einfachen Fermentwirkung einzudringen, was um so erstrebenswerter ist, als eine rein physikalische Erklärungsweise der katalytischen Eigenschaften der Extrakte (z. B. die Verdichtungshypothese) nach wie vor unbefriedigend erscheint.

Versuche, in der Weise dem Ziel näher zu kommen, daß wir unter den bekannten in möglichster Reinheit zugänglichen Eiweißkörpern einen aktiven ausfindig machen, oder ihn durch einfache chemische Eingriffe in einen aktiven Zustand überzuführen suchten, schlugen bisher fehl. Insbesondere sei mit Bezug auf Loews erwähnte Annahmen bemerkt, daß Lösungen von künstlichen Peptonen, welche bekanntlich reichliche Mengen von Albumose enthalten, sich als völlig inaktiv erwiesen.

¹⁾ P. Schmidt, Zeitschr. f. Chemie u. Industrie d. Koll., Bd. 11, S. 5 (1912).

²) Ähnlich liegen z. B. die Verhältnisse bei den kolloidalen Lösungen von Palladium, Platin usw., die Paal hergestellt hat, deren Eigenschaften in hohem Grade von der als Schutzkolloid wirkenden Protalbin- und Lysalbinsäure abhängen.

Dagegen führte die folgende Überlegung zu Versuchen, die eine Reihe für das besprochene Problem nicht unwichtiger Tatsachen ergaben. Als eine der spezifischen Eiweißreaktionen kann ihre Hydrolysierbarkeit durch die typischen Vertreter der Verdauungsfermente betrachtet werden. Würde also die Aktivität der Katalaselösung durch den Verdauungsvorgang zerstört, so hätte damit die Auffassung, daß der aktive Stoff ein Eiweißkörper sei, ziemlich an Wahrscheinlichkeit gewonnen. Im folgenden wird der Beweis erbracht werden, daß die Katalase der tryptischen Verdauung unterliegt.

II. Versuchsmaterial.

Als Katalaselösungen kamen zur Verwendung: 1. der wässerige Extrakt einer mit 50% igem Alkohol gewonnenen Fällung aus verdünnter lackfarbener Rinderblutlösung, 2. unveränderte, verdünnte, lackfarbene Blutlösung, 3. der direkte wässerige Extrakt aus Rindsnierenfett und 4. Extrakte aus einigen Pflanzensamen.

Als Verdauungsferment kamen die Lösungen verschiedener käuflicher Präparate in Betracht und zwar:

- 1. Pepsinum hydrochloricum solubile Merck 1:100 = "Pepsin I".
 - 2. Pepsin («Witte»)-Kahlbaum = «Pepsin II».
- 3. Pepsinum purum absolutum in lamellis Merck 1:4000 = *Pepsin III *.
 - 4. Trypsin Merck = «Trypsin I».
 - 5. Trypsin Kahlbaum = Trypsin II.
 - 6. Papayotin 1:200 Merck.

Außerdem kamen noch ein Invertinpräparat und ein Diastasepräparat, beide ebenfalls von Kahlbaum, zur Verwendung. Von natürlichen Verdauungsslüssigkeiten wurde frischer Magensaft vom Flußkrebs zum Vergleich herangezogen, der dem lebenden Tier mit einer feinen Pipette vom Mund her mit großer Leichtigkeit und in völliger Reinheit als hellgelbliche bis braune, fast klare Flüssigkeit in genügender Menge entnommen werden konnte. 1)

¹⁾ Jordan, Pflügers Arch., Bd. 101, S. 263 (1904).

Um eine vergleichsweise Schätzung der Aktivität der einzelnen Verdauungsfermente zu ermöglichen, wurde die bekannte Fuldsche Edestinprobe¹) in etwas abgeänderter Form herangezogen.

Diese Methode ist bekanntlich zur Aktivitätsbestimmung speziell von Pepsinlösungen ausgearbeitet, doch läßt sie sich auch für Trypsin gut anwenden, wenn man die nach Fulds Vorschrift hergestellte saure Edestinlösung neutralisiert und nur vor dem Proben mit Kochsalzlösung das Reaktionsgemisch in geeigneter Weise wieder ansäuert. Um ferner eine möglichst weitgehende Anpassung dieser Vorprüfung an die später beschriebenen Versuche mit Katalaselösungen anzustreben, wurden diese nicht bei Bruttemperatur, wie Fuld empfiehlt, sondern bei Zimmertemperatur ausgeführt. Ungeeignet zur Prüfung der Aktivität erwies sich die Edestinprobe bei Papayotin, da dessen wässerige Lösung mit Kochsalzlösung bei saurer Reaktion für sich Niederschläge liefert. Die Edestinprobe wurde deshalb hier durch die bekannte Prüfung mit Magermilch ersetzt, wobei sich ergab, daß das Merksche Papayotinpräparat außer dem proteolytischen Ferment sehr erhebliche Mengen von Labferment enthalten muß, da die zu den Versuchen verwendete verdünnte Lösung die Magermilch in außerordentlich kurzer Zeit zur Gerinnung brachte. In einiger Zeit verschwindet das Koagulum dann wieder, indem es von der im Papayotin vorhandenen Protease verdaut wird. Auch der Krebsmagensaft liefert mit Kochsalzlösung eine Trübung, die jedoch gegen die Fällung unveränderter Edestinlösung so gering ist, daß sich hier noch die Probe anwenden ließ. Es ergab sich, daß der Magensaft in der Verdünnung 1:15 bis 1:20 etwa die gleiche Aktivität besitzt, wie eine Trypsinlösung 3:1000. Die beiden Trypsinpräparate verdauten in der gleichen Verdünnung ungefähr gleich schnell. In 2 ccm einer mit 0.6 ccm Trypsinlösung (3:1000) versetzten Fuldschen neutralisierten Edestinlösung erhielt man nach 1/2 stündigem Stehen bei Zimmertemperatur mit Natriumchloridlösung keine Trübung mehr, während eine Lösung mit 0,4 ccm Trypsinlösung

¹⁾ Bioch. Zeitschr., Bd. 6, S. 473 (1907).

sich nach dieser Zeit auf Natriumchloridzusatz noch deutlich trübte. Die Prüfung der Pepsinpräparate erfolgte sowohl in saurer (Fuldsche Vorschrift) als in neutraler Lösung. Es ergab sich natürlich, daß die Wirkung in saurer Lösung viel stärker war als in neutraler. Bei der Neutralisation muß dafür gesorgt werden, daß noch keine Ausflockung des Edestins durch den Alkalizusatz eintritt. Ist das Edestin einmal ausgeflockt, so wird es durch Pepsin fast nicht mehr angegriffen, während die neutralisierte, aber noch klare Lösung noch sehr gut verdaut wird. Die Verhältnisse für «Pepsin I» liegen etwa so, daß die Menge, welche in saurer Lösung innerhalb zehn Minuten 2 ccm der Edestinlösung bei Zimmertemperatur gerade verdaut, 0,1-0,2 ccm beträgt, während in neutralisierter Lösung 0,6 ccm für den gleichen Effekt nötig sind. «Pepsin II» ist etwa ebenso stark wie «Pepsin I», während «Pepsin III» noch in der fünffachen Verdünnung mindestens so stark wirkt wie «Pepsin I». Die angewendeten Konzentrationen sind diejenigen, die auch bei den Katalaseversuchen in Anwendung kamen. Durch besondere Versuche wurde festgestellt, daß vorheriges Schütteln der Fermentlösungen mit Chloroform ihre Wirkung auf Edestinlösung nicht herabsetzte. Auch bei dem Invertin- und Diastasepräparat wurde ihre Aktivität durch Vorversuche festgestellt.

III. Verdauungsversuche an Katalaselösungen.

Die Verdauungsversuche an Katalaselösungen wurden in der Weise ausgeführt, daß eine bestimmte Menge des aktiven Extrakts mit der Verdauungsflüssigkeit versetzt wurde und darauf sofort und später in geeigneten Intervallen aus dem Reaktionsgemisch Entnahmen gemacht wurden, die mit der früher¹) zur Messung der Aktivität von Katalaseextrakten angewendeten titrimetrischen Methode geprüft wurden. Die Proben wurden in ca. ¹/200-n-Hydroperoxydlösung gebracht und die Zersetzungsgeschwindigkeit des Hydroperoxyds mit Kaliumpermanganat bei Zimmertemperatur gemessen, wobei darauf geachtet wurde, daß bei zu vergleichenden Versuchen die Titer-

¹⁾ a. a. O.

entnahmen zur Berechnung der K-Werte nach möglichst den gleichen Zeiten erfolgten.

Die Versuche wurden zunächst bei Zimmertemperatur ausgeführt, die gewöhnlich 20° C. betrug.¹) Da gelegentlich bei Zimmertemperatur ein spontaner Aktivitätsrückgang der Katalaselösungen zu beobachten ist, so wurde stets neben dem Verdauungsgemisch unveränderte, nur mit Wasser auf die gleiche Verdünnung gebrachte Katalaselösung unter genau den gleichen Versuchsbedingungen untersucht. Meist war jedoch die spontane Aktivitätsabnahme, wie aus den folgenden Versuchen hervorgehen wird, vor allem wenn der Versuch sich nicht über zu lange Zeit erstreckte, sehr unbedeutend. Die Verdauungsgemische enthielten zur Vermeidung von bakteriellen Infektionen stets etwas Chloroform, nachdem durch besondere Versuche festgestellt worden war, daß die Wirksamkeit der Fermente auch auf die Katalase durch Chloroform in keiner Weise beeinträchtigt wurde.

Tabelle 1.

Einfluß von Proteasen auf Blutkatalase.

Es werden angesetzt: a) 4 ccm Katalaselösung + 2 ccm Wasser

c) 4 · · · + 2 · ·									I	Trypsin Pepsin Papayo	1	
		a)			b)			c)			d)	
Nach 30'	1' 2' 4'	13,97 9,91 4,90	1491 1529	1' 2' 4'	14,65 13,00 8,20	1022 1001	1' 2' 4'		1551 1470	1' 2' 4'	14,64 11,10 6,50	1202 1162
Nach 23 h	1' 2' 4'	12,66 8,85 4,42	1508	1' 2' 4'		43.8	1' 2' 4'	11,50 8,00 4,05	1576 1478		12,44 9,08 5,11	
Nach 47 h	1' 2' 4'	9,45 6,91 3,43	1 2 4 1	1' 53'	16,92 16,40	-		_	i i	1' 2' 4'	11,15 8,38 4,97	1124

¹) Versuche bei höherer Temperatur wurden in einem Thermostaten mit Thermoregulator vorgenommen.

In Tabelle 1 ist ein Versuch über die Einwirkung verschiedener Proteasen auf Blutkatalase mitgeteilt. 30 Minuten nach dem Beginn des Versuchs die Aktivität der Extrakte noch ziemlich die gleiche Höhe zeigt, nur bei dem trypsin- und papayotinhaltigen Extrakt eine geringe Schwächung festzustellen ist, hat sich das Bild nach 23 stündigem Stehen der Extrakte bei Zimmertemperatur wesentlich geändert. Die Aktivität der trypsinhaltigen Katalaselösung ist fast vernichtet, während die übrigen Extrakte eine völlig unveränderte Aktivität erkennen lassen, und diese Verhältnisse sind nach 47 Stunden nicht geändert. Dieses durch mehrfache Wiederholung bestätigte Versuchsergebnis zeigt also, daß Trypsin die Katalase zerstört, während das zur Verwendung gelangte Pepsinpräparat keinen Einfluß ausübt. Daß die durch Papayotin sich anfangs zeigende geringe Schwächung schwerlich als eine Verdauungswirkung aufzufassen ist, geht aus dem in Tabelle 2 angestellten Versuch

Tabelle 2.
Einfluß von Papayotin auf Blutkatalase.

		. a)	X		b)		
Nach 10'	1' 3' 6'	8,63 3,86 1,24	1747 1644	1' 3' 6'	8,81 4,14 1,40	1640 1570	
Nach 24h		_		1' 3' 6'	7,86 3,92 1,43	1511 1460	
Nach 78h	1' 3' 6'	7,28 3,20 1,18	1785 1444	1' 3' 6'	7,13 3,58 1,52	1496 1240	

hervor, bei dem eine stärkere Konzentration des Papayotins zur Anwendung kam, ohne daß ein deutlicher Effekt festzustellen gewesen wäre. Diese katalasezerstörende Wirkung des Trypsins tritt, wie die folgende Versuchsreihe (Tabelle 3) zeigt, in gleicher Weise bei unveränderter lackfarbener Blutlösung

Tabelle 3.

Einfluß von Proteasen auf lackfarbene Blutlösung. Es werden angesetzt: a) 3 ccm Blutlösung + 3 ccm Wasser

b) 3 - + 3 - Trypsin I
c) 3 - + 3 - Pepsin I

		a)			b)			c)	
Nach 10'	1' 3' 6'	6,40 3,92 1,88	1065 1064	1' 3' 6'	6,62 3,98 1,86	1105 1101	1' 3' 6'	6,10 3,87 1,81	988 1100
Nach 17h		_		1' 16' 38'	7,97 5,65 3,49	99,6 95,1	1' 3' 6'	6,39 3,71 1,75	1181 1088
Nach 41h				1' 10' 34'	7,95 7,38 6,41	35,9 25,5	1'. 3' 6'	5,93 3,48 1,73	1157 1012

auf, während Pepsin auch hier ohne Einfluß bleibt. Gelegentlich führt die Trypsinwirkung scheinbar nicht zur völligen Vernichtung der Katalase, sondern es bleibt ein kleiner Rest von Aktivität erhalten. Dies erklärt sich einfach daraus, daß die künstlichen Trypsinpräparate in Lösung ziemlich rasch ihre Aktivität spontan verlieren. Es empfiehlt sich deshalb, wie dies auch in den angeführten Versuchen stets geschehen ist, die zu untersuchenden Fermentlösungen stets frisch aus den Trockenpräparaten herzustellen.

Die auffallende Verschiedenheit des Pepsins und Trypsins in ihrem Verhalten gegen Katalase wurde näher untersucht. Dazu wurden zunächst die anderen oben angeführten Präparate, vor allen Dingen «Pepsin III» und «Trypsin II» herangezogen. Das Präparat «Trypsin II» verhält sich, wie Tabelle 4 lehrt, durchaus ähnlich dem «Trypsin I», d. h. es äußerte in etwa der gleichen Konzentration annähernd die gleiche zerstörende Wirkung auf die Blutkatalaselösung wie «Trypsin I». Dagegen zeigt sich «Pepsin III» entgegen dem Verhalten von «Pepsin II» scheinbar wirksam. Nach 24 stündigem Stehen mit «Pepsin III» war die Aktivität der Katalase fast vernichtet. Da das Präparat

Tabelle 4.

Einfluß von Trypsin II und Pepsin III auf Blutkatalase.

		a)			b)			c)	
Nach 24 th	1' 3' 6'	6,90 4,50 2,60	928 794	1' 3' 6'	8,34 7,23 6,14	310 237	1' 3' 7'	9,10 8,81 8,90	-
Nach 48h	1' 3' 6'	7,59 4,91 2,85	946 788	1' 3' 6'	8,63 8,45 8,40	- -		_	

jedoch viel stärker sauer reagiert als «Pepsin I», 1) so lag die Vermutung nahe, daß es sich um keine Verdauung, sondern um eine bloße Säurewirkung handle. Dies scheint nach den im folgenden mitgeteilten Versuchen in der Tat der Fall zu sein. Jedenfalls gestatten diese nicht, von einer wirklichen Verdauungswirkung des Pepsins zu reden.

Tabelle 5.

Einfluß von Säure auf die Pepsinwirkung bei Blutkatalase. Es werden angesetzt:

a) 3 ccm Katalaselösung + 4 ccm Wasser

b) 3 +2 +2 ccm Pepsin III c) 3 +2 +2 +2 +2

+2 · neutralisiert

d) 3 +2 Säure +2 +2 Wasser +2 +2 Wasser

		a)			b)			c)			d)			e)	
Nach 10'	1' 4' 8'	9,50 6,55 4,15	53 8 496	1' 4' 8'	10,10 8,12 6,09	316 312	1' 4' 9'	9,83 7,05 4,14	481 462	1' 4' 8'	9,85 7,11 4,60	472 473	1' 4' 8'	10,56 8,16 6,08	373 320
Nach 18h	1' 4' 8'	9,30 6,60 4,10	497 517	1' 5' 9'	10,93 10,32 9,79	6 2,4 57,3	1' 5' 9'	9,53 6,17 3,83	472 518	1' 5' 9'	10,01 6,72 4,65	433 340	1' 5' 9'	10,79 9,25 7,92	167 169

¹⁾ Die Analyse ergab für «Pepsin III» den mindestens 10 fachen Chlorgehalt von «Pepsin I».

Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß außer der unveränderten sauren Pepsinlösung noch eine vorher neutralisierte Pepsinlösung gleicher Konzentration und dieselbe nach Zusatz von bestimmter geringer Salzsäuremenge, 1) deren Wirkung für sich allein durch entsprechende Parallelversuche kontrolliert werden konnte, in Anwendung kamen. Einen genaueren Überblick geben die Angaben in Tabelle 5. Die Versuchsergebnisse zeigen, daß die scheinbare Wirkung von Pepsin III als eine allmählich zerstörende Wirkung der in dem Präparat enthaltenen Säure betrachtet werden kann, da die Wirkung der Säure³) für sich, wie Versuch d und e lehren, sogar diejenige der mit der gleichen Menge Säure versetzten pepsinhaltigen Lösung übertreffen, was offenbar auf eine teilweise Bindung der Säure durch das Pepsin zurückzuführen ist.

Tabelle 6.

Einfluß von Säure auf die Pepsinwirkung bei 35°. (Blutkatalase.)
Es werden angesetzt:

+ 2 ccm Pepsin III

+2 · neutralisiert

1. 3 ccm Katalaselösung + 4 ccm Wasser

2. 3

3. 3

+ 2

4. 3 5. 3 6. 3 7. 3	•	* + + + + + + + + + + + + + + + + + + +	2 * Sä 2 * 5 4 * 5	+2	, Konzentr. –	; ⊢2 ccm Pep	sin neutral.
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7,
Nach 1'	1' 9,35 4' 6,43 8' 4,04	1' 10,14 5' 6,89 8' 5,08	4 7,23	4' 7,37 429	1' 10,44 4' 8,06 8' 5,83	1' 10,87 4' 10,34 8' 9,87	1' 10,38 4' 7,87 8' 5,73
Nach 3 h 30'	A/A QO	4'11,15	4 7,38	1' 10,85 4' 10,44 8' 10,08 38,1	1 10,87	1' 10,94 5' 10,88	1' 10,93 4' 10,97

¹⁾ Die Neutralisation muß sehr sorgfältig vorgenommen werden, denn es ist bekannt, daß ein Überschuß von Alkali die Wirksamkeit des Pepsins sehr rasch vernichten soll. Anderseits soll allerdings die Verdauung durch Pepsin in Na₂HP₄-Lösungen gut von statten gehen (vgl. Oppenheimer, Fermente, IV. Aufl., S. 274 u. S. 276).

²) Die Konzentration der zugesetzen Säure war ¹/200-n.

Ein Vergleich von Versuch e und b könnte dahin gedeutet werden, als sei doch Pepsin für sich in unverändertem Zustande wirksamer als freie Säure. Dagegen spricht jedoch die in der folgenden Tabelle 6 dargestellte, noch um einige Reaktionsgemische erweiterte Versuchsreihe, die bei Bruttemperatur (35°) ausgeführt wurde. Hieraus ergibt sich, daß durch Verstärkung des Säurezusatzes leicht eine Konzentration der H-Ionen gefunden werden kann, welche in Verbindung mit dem neutralisierten Pepsin genau die gleiche Wirkung ausübt, wie die unveränderte Pepsinlösung (vgl. Vers. 2 u. 7).

Einen Stoff, welcher die Pepsinverdauung verhindert, enthalten anderseits die aktiven Extrakte aus Blut und auch — was hier vorweg genommen sei — aus Fett nicht, denn es ließ sich zeigen, daß die Edestinverdauung durch Pepsin mit der gleichen Geschwindigkeit eintritt, unbeschadet dessen, ob die Edestinlösung außerdem Blutkatalase enthält oder nicht. Dieser Befund ist wichtig, weil in der Literatur¹) die Existenz organischer Stoffe vermutet wird, die z. B. auch auf immunisatorischem Wege darstellbar sein sollen, und welche die Verdauung eines sonst in reiner Form angreifbaren Eiweißstoffes verhindere. Speziell für Pepsin vermutet man bekanntlich derartige «Antikörper», in der Schleimhaut des Magens, aber auch in Extrakten aus Hefen, Pilzen und Bakterien.

Es übt also nach den bisher dargestellten Versuchen nur das Trypsin eine nachweislich zerstörende Wirkung auf die Blutkatalase aus. Daß es sich hier tatsächlich um eine Verdauungswirkung handelt, konnte noch dadurch gestützt werden, daß diejenigen Faktoren, welche die Wirkung einer tryptischen Verdauung verstärken müßten, in dem zu erwartenden Sinne wirken. So beschleunigt eine Erhöhung der Temperatur die Wirkung wesentlich, ebenso alkalische Reaktion des Verdauungsgemisches, während Säure die Wirkung völlig aufhebt (vgl. Tabelle 7 und 8). Bei einem anderen Versuch, bei dem die mittlere Temperatur des Verdauungsgemisches sicher nicht 10°C. wesentlich überschritten hatte, war innerhalb 22 Stunden nur

^{&#}x27;) Vgl. hierüber vor allen C. Oppenheimer, Fermente, III. Aufl., 1909, S. 270 ff.

Tabelle 7.

			and they bear to	State of the State of		A 184	125
Lind. O		T	C D1		122	. 05	1
CHIHIII	von	Trypsin	am Bi	IIIKAIA	ASP	กคเสก	
		1	~~.	marre co	WOO !	DOI OO	
	. 511	Trypsin	war Di	minuta	TOOL !	DOI DO	

Es werden angesetzt: a) 3 ccm Katalase +4 ccm Wasser b) 3 \rightarrow +2

		a)		b)		
Nach 10'	1' 5' 9'	8,67 5,16 3,12	563 546	1′ 5′ 10′	8,77 5,18 2,56	572 612
Nach 3h	1' 5' 9'	8,75 5,50 3,47	504 500	1' 5' 9'	9,26 6,97 5,27	309 304
Nach 19h	1' 5' 9'	8,09 5,17 3,22	486 514	1' 6' 13'	9, 6 6 9,10 8,50	51,9 42,8

Tabelle 8.

Einfluß von Säure und Alkali auf die Trypsinwirkung bei Blutkatalase.

2. 3. 4. 5.	3 ccm Kat 3 . 3 . 3 . 3 .	alaselösun	+ 2 · + 2 · + 2 · + 2 · + 2 · + 2 · + 2 · + 2 · + 2 · + 2 · + 2 · + 2 · + 2 · + 2 · + 2 · · + 2 · · + 2 · · · + 2 · · · ·	Wasser , - Trypsin - , -	+ 2 → W + 2 → Al	kali ure asser kali iure
	1.	2.	8.	4.	5.	6.
Nach 10'	1' 8,66 5' 5,32 9' 3,21	1' 9,43 396 5' 6,55 449 9' 4,33	5' 6.63	1' 9,04 5' 5,94 9' 3,68	1' 9,69 5' 6,84 9' 4,35	1' 9,30 454 5' 6,12 473 9' 3,96
Nach 6h	_	1' 9,39 5' 7,23 9' 5,37	_	1' 9,13 5' 6,63 9' 4,7 9	1' 9,91 5' 9,51 9' 9,09	1' 9,21 5' 6,80 9' 5,19
Nach 23h	1' 8,51 5' 5,30 5' 3,18	547.91	15'17.70	1' 9,35 5' 7,71 9' 6,70	5' 9.55	9,21 5' 7,21 9' 5,42

ein Aktivitätsrückgang von K = 550 bis auf K = 430 durch die Trypsinwirkung — offenbar infolge der tiefen Verdauungstemperatur — festzustellen. Ebenso wichtig erscheint es in diesem Zusammenhange zu erwähnen, daß, wie die Versuche in Tabelle VIII a erkennen lassen, nichtproteolytische Fermente wie Diastase und Invertin durchaus unwirksam sind.

Tabelle 8a.
Einfluß von Invertin und Diastase auf Blutkatalase.

			nvertin.			
Es wurden	angesetzt:	a) 3 cc	m Katalas	elösung +	3 ccm	Invertin
		b) 3 .		The second of the second	and the state of the	Wasser

		a)			b) .	
Nach 24h	1' 4' 8'	8,22 4,50 2,15	869 802	1' 4' 9'	8,50 5,05 2,15	754 742
Nach 48h	1' 4' 8'	7,60 4,13 1,93	883 826	1' 4' 8'	8,02 4,57 2,21	814 789

II. Diastase

Es wurden anges	etzt: a) 3 ccn	n Katalaselösung	r + 3 ccm	Diastase
	b) 3 •		+3	

		a)			b)	
Nach 10'	1' 4' 8'	10,60 7,25 4,30	550 567	1′ 3′ 5′	10.70 8,40 6,21	526 656 (?)
Nach 22h	1' 4' 8'	10,33 6,78 4,21	610 517	1' 4' 8'	10,34 7,08 4,25	548 554
Nach 48h	1' 4' 8'	9,87 6,58 3,90	587 568	1' 5' 8'	9,63 5,90 3,95	532 581

Es war nun noch dem Einwande zu begegnen, daß die Schwächung der Katalase vielleicht der sekundären Wirkung der aus Verunreinigungen der Katalase gebildeten tryptischen Verdauungsprodukte zuzuschreiben sei. Diese Wirkung hätte

Tabelle 9.

Einfluß von Aminosäuren und Pepton auf Blutkatalase.

I. Glykokoll.

Es werden angesetzt: a) 2 ccm Katalaselösung + 1 ccm Glykokoll
b) 2

Wasser

		a)			b)	
Nach 10'	1' 3' 6'	10,67 6,81 3,73	955 872	1' 3' 6'	9,64 6,56 3,87	836 764
Nach 19h	1' 3' 6'	9,40 6,38 3,30	842 954			

II. Leucin.

Es werden angesetzt: a) 3 ccm Katalaselösung + 2 ccm Leucin b) 3 . . . + 2 . Wasser

		a)			b)	
Nach 10'	1′ 4′ 8′	8,62 5,25 2,83	718 671	1' 4' 8'	8,45 5,02 2,64	754 748
Nach 23h	1' 4' 8'	8,20 5,30 2,83	632 662	1' 4' 8'	8,48 5,52 3,01	588 658

III. Pepton.

		a)			b)	
Nach 10'	1' 3' 6'	9,14 5,95 3,15	932 921	1' 3' 6'	8,78 .5,61 2,90	973 955
Nach 54h	1′ 3′ 6′	8,71 5,95 3,57	828 740	1' 3' 6'	8,61 5,79 3,24	862 840

mit fortschreitender Zunahme ihrer Menge entsprechend stärker werden müssen und hätte so eine auf allmählicher Verdauung beruhende direkte Schädigung der Katalase durch Trypsin vortäuschen können. Wie jedoch die in Tabelle 9 dargelegten Versuche zeigen, sind z. B. Pepton, Leucin und Glykokoll ohne jede Wirkung auf Katalase. Und wenn damit auch nur eine sehr geringe Zahl der durch tryptische Verdauung möglicherweise entstehenden Stoffe untersucht ist, so erscheint es doch sehr unwahrscheinlich, daß die übrigen in Betracht kommenden, chemisch den untersuchten doch ziemlich ähnlichen Stoffe sich wesentlich verschieden von diesen verhalten sollten.

Außer der Blutkatalase wurde, wie erwähnt, noch die schon mehrfach untersuchte Fettkatalase geprüft. Frisches Nierenfett wurde mehrmals mit immer neuen Portionen destillierten Wassers durchgeknetet und die so gewonnenen Extrakte vereinigt. Sie stellten nach dem Filtrieren und nach längerem Stehen, wobei sich ein inaktives Sediment bildet, und nach erneuter Filtration fast völlig klare farblose Lösungen dar, enthielten also kein Hämoglobin. Ihr Verhalten entsprach, wie die folgenden Versuchsreihen zeigen, völlig demjenigen der Blutkatalase. Es ergab sich die annähernd gleiche Empfindlichkeit gegen Trypsin, während Pepsinpräparate und Papayotin offenbar ohne merklichen Einfluß blieben. Auch wenn

Tabelle 10.

Einfluß von Trypsin I und Pepsin I auf Fettkatalase.

Es	wurden	angesetzt: 1.	3 ccm	Katalaselösung + 3 ccm	Wasser
		2.	3 .	+3,	Pepsin I
		3.	3 .	+ 3 •	Trypsin I

		1.			2.			3.	
Nach 10'	1' 4' 8'	6,37 3,81 2,03	744 684	1' 4' 9'	6,11 3,72 1,53	718 772	1' 5' 9'	6,25 ['] 2,98 1,53	804 724
Nach 22h		<u>-</u>		1' 4' 8'	6,77 4,05 2,10	744 713	1' 4' 10'	7,42 5,93 4,10	325 267
Nach 77h				1′ 5′	6,20 3,30	685	1′ 5′	7,29 7,21	_

Tabelle 11.

Einfluß von Pepsin I	und Papayotin auf Fettkatalase bei 35°.	10.00
	a) 2 ccm Katalaselösung + 2 ccm Wasser	J. C. S. A.

 1	b)	2	?				•	1			1	100		P	ep:	sin	1	* 5.00
	1	2			1		,						7.	 -	37.30	ave		

		a)			b)			c)	
Nach 10'	1' 5' 9'	8,21 5,30 3,59	475 423	1' 5' 9'	8,18 6,32 4,76	280 308	1' 5' 9'	8,12 6,15 4,49	302 342
Nach 24h	1' 5' 9'	8,15 5,61 4,15	406 327	1' 5' 9'	8,60 6,68 5,26	274 260	1' 5' 9'	8,14 6,12 4,80	310 264

Tabelle 12.

Einfluß von Trypsin II auf Fettkatalase.

Es wurden angesetzt: a) 3 ccm Katalaselösung + 3 ccm Wasser
b) 3
Trypsin II

		a).			b)	
Nach 10'	1' 3'	7,00 4,78	828	1' 3'	6,55 4,47	830
Nach 22h	1' 3' 7'	6,74 4,73 2,55	769 671	1' 3' 7'	7,02 5,23 3,16	639 547
Nach 48h	1′ 3′ 8′	7,21 5,05 2,41	773 643	1' 3' 9'	7,95 6,78 4,54	346 290

man durch Erhöhung der Verdauungstemperatur bei Pepsin und Papayotin und durch Alkalizusatz bei Papayotin versucht, günstigere Bedingungen für eine Wirkung herbeizuführen, kann eine Zerstörung der Katalase, die sich als Verdauung bezeichnen ließe, nicht hervorgerufen werden. Denn die z. B. in Versuch 11 sich zeigende augenblickliche Schwächung der Aktivität nach dem Zusatz der Protease schreitet auch nach langem Stehen der Reaktionsgemische nicht fort. Vielleicht hängt diese Schwächung bei Papayotinzusatz mit den hier stets eintretenden Nieder-

Tabelle 13.

Einfluß von Alkali auf die Papayotinwirkung bei Fettkatalase. Es wurden angesetzt:

-1	0	V-4-11" / / 117	
a)	o ccm	Katalaselösung + 4 ccm Wasser	0 "
-,			
		사이 하다 중에 이 집안 없는 것이 되었다면서 가장 하는 것이 되었다.	

D)	0)	72,	» +	z ccm	Aikaii
	3 .	1.0			the state of the state of

	a)			b)			c)		
Nach 10'	1′ 8′	7,82 4,20	386	1' 7' 30"	7,81 4,00	447	1′ 8′	8,07 3,97	440
Nach 20h	1′ 8′	8,10 4,39				360	1′ 8′	8,50 4,75	361
Nach 72h	1' 8'	10.98 5,28	454	1' 9'	11,04 6,67	274	1' 8'	11,15 6,73	313

schlagsbildungen zusammen, welche den Adsorptionszustand und damit die Aktivität der Katalase verändern können, während bei Pepsinzusatz wieder an eine Säurewirkung zu denken wäre. Bei einem hier nicht tabellarisch vermerkten Versuch mit Papayotin bei Zimmertemperatur ergab sich nach dreitägiger Einwirkung für das papayotinhaltige Gemisch ein Abfall von K = 734 bis K = 580, bei dem papayotinfreien von K = 780bis auf K = 650. Hier kann von einer merklichen Verschiedenheit im Verhalten der papayotinfreien und papayotinhaltigen Lösung nicht gesprochen werden. Auch hinsichtlich der Schnelligkeit der Zerstörung durch Trypsin läßt sich kein Unterschied gegenüber der Blutkatalase feststellen, sodaß entsprechend unseren früheren Befunden über die Beeinflußbarkeit der katalytischen Wirkung der beiden Extraktarten auch hiernach kein Unterschied im Verhalten der Fettkatalase und Blutkatalase zu konstatieren ist.

Es sei endlich erwähnt, daß wir auch versucht haben, pflanzliche Katalasen in den Kreis der Betrachtung zu ziehen. Doch haben diese Versuche einstweilen zu keinem eindeutigen Ergebnisse geführt, was mit der Schwierigkeit zusammenhängt, hier einigermaßen reine und homogene Extrakte von unveränderlicher Aktivität zu gewinnen. Versuche mit Pilzpreßsaft ergaben wiederum die außerordentlich schnelle Schwächung ihrer

Aktivität, welche sie für Verdauungsversuche völlig unbrauchbar macht. Mit Bezug auf die an anderer Stelle von uns geäußerte Vermutung,1) daß diese Schwächung auf eine endotryptische Wirkung zurückzuführen sein könne, sei erwähnt, daß inaktiv gewordener Pilzsaft Blutkatalase jedenfalls nicht zerstört. Wässerige Extrakte aus Mohnsamen²) scheinen gegen Trypsin empfindlich zu sein, doch sind die Schwankungen in den Versuchsergebnissen so groß, daß die Frage einer weiteren Klärung bedarf. Daß, wie aus Loews Versuchen zu folgern ist, die Verhältnisse bei pflanzlichem Material überhaupt komplizierter liegen, indem hier wahrscheinlich der aktive Stoff zum Teil in unlöslichem Zustande vorhanden ist, erscheint auch uns wahrscheinlich. Denn es ist nicht möglich, z. B. aus den Zelltrümmern der möglichst fein zerriebenen Mohnsamen durch noch so häufiges Auswaschen mit destilliertem Wasser bei Zimmertemperatur die aktive Substanz zu entfernen. Der ausgewaschene Rückstand zersetzt Hydroperoxyd vergleichsweise mindestens so lebhaft wie der durch mehrtägiges Stehen gewonnene Extrakt. Freilich darf man nicht die durch die Festig-

Tabelle 14.

Einfluß von Krebsmagensaft auf Blut- und Fettkatalase.

Es wurden angesetzt: a) 3 ccm Blutkatalase + 2 ccm Wasser

- b) $3 \rightarrow +2 \rightarrow Krebsmagensaft$
- c) 3 . Fettkatalase + 2 . Wasser
- d) 3 · · · + 2 · Krebsmagensaft

	Blutkatalase							Fettkatalase					
		a)			b)			c)			d)		
Nach 10'	1' 5' 9'	9,02 4,47 2,42	762 666	1' 5' 9'	9,63 5,14 2,66	682 715	1' 4' 7'	9,72 6,39 4,30	607 573	1' 4' 7'	10,40 7,60 5,14	454 566	
Nach 24h	1' 4' 8'	9,60 6,40 3,80	587 566	1′ 4′	11,10 11,15		1′ 4′	9,88 6,93	513	1' 4'	10,97 10,91		

¹⁾ Festschrift Chun, Zoologica 1913.

²⁾ Vgl. Loew, a. a. O., S. 13.

Tabelle 15.

Einfluß von Krebsmagensaft auf Blut- und Fettkatalase bei 35°.

Es wurden angesetzt: a) 3 ccm Blutkatalase + 2 ccm Krebsmagensaft
b) 3 > Fettkatalase + 2 >

		a) ·			b)	•
Sofort untersucht	1' 4 ' 7'	9,20 6,28 4,20	553 582	1' 4' 7'	10,05 7,45 5,68	4 33 393
Nach 90'	1' 4' 9'	10,93 10,72 10,32	28 33	1′ 4′	10,80 10,98	

Tabelle 16.

Einfluß von Krebsmagensaft auf Blut- und Fettkatalase bei 35° C.

Es wurden angesetzt: a) 4 ccm Fettkatalase + 2 ccm Krebsmagensaft b) 4 • Blutkatalase + 4 • •

		a)				b)	
Nach 2'	1′ 7′	9,41 4,07	607	Nach 2'	1' 4' 8'	10,16 6,84 3,94	573 599
Nach 31'	1' 7'	9,60 4,38	568	Nach 20'	1' 4' 8'	10,65 8,00 5,41	414 428
Nach 71'	1' 7'	9,80 5,28	448	Nach 50'	1′ 4′ 8′	11,47 10,45 9,65	13 ₄
Nach 218'	14'	10,70 7,65	85,7	Nach 70'	1' 5' 13'	11,86 11,25 10,27	5' 5(

keit der pflanzlichen Zellmembranen einerseits und die durch die Hartnäckigkeit der Adsorption sich ergebenden Schwierigkeiten, die einer ausreichenden Extraktion entgegenstehen, verkennen.

Wir haben unsere Versuche daher vorläufig nur noch in der Richtung erweitert, daß wir auch eine natürliche Verdauungsflüssigkeit auf die untersuchten tierischen Katalaselösungen einwirken ließen. Der Magensaft von Wirbeltieren ist wegen seiner stark sauren Eigenschaft ungeeignet. Dagegen liegt in dem neutralen Magensaft vom Flußkrebs (Astacus fluviatilis) ein, wie schon erwähnt, leicht und stets in frischer Form beschaffbares Ferment vor.

In den folgenden Tabellen ist die Wirkung des Safts auf Blut- und Fettkatalase bei gewöhnlicher Temperatur und bei Bruttemperatur dargestellt (vgl. Tabelle 14—16). Man erkennt, daß die Wirkung des auf das zirka Fünfzehnfache verdünnten Saftes diejenige der erwähnten Trypsinlösungen ganz erheblich übertrifft. Schon nach 24 Stunden ist bei Zimmertemperatur sowohl Blut wie Fettkatalase völlig zerstört, während bei Bruttemperatur die Zerstörung je nach der Verdünnung des Krebssaftes nach 1—4 Stunden erreicht ist, sodaß sich hier der Verlauf der Verdauung bequem verfolgen läßt.

Diese starke Wirkung erscheint auffällig, da bei der Edestinprobe sich der Krebsmagensaft etwa ebenso wirksam erwiesen hatte, wie die von uns verwendete Trypsinlösung (s. o.).

IV. Schlußfolgerungen.

Es fragt sich nun, welche Schlüsse man aus den beschriebenen Befunden zu ziehen berechtigt ist. Dadurch, daß die Verdaulichkeit der Katalase durch Trypsin erwiesen ist, während andere nicht proteolytische Fermente unwirksam sind, erscheint die Eiweißnatur der Katalase sehr wahrscheinlich geworden zu sein; denn es ist nicht gerade wahrscheinlich, daß die Zerstörung der Katalasewirkung nur die Folge der Verdauung eines etwa vorhandenen als Schutzkolloid wirkenden Eiweißstoffes wäre, mit dessen Verschwinden der Lösungszustand der Katalase so verändert würde, daß eine Inaktivierung einträte. Diese Annahme ist durch keine experimentellen Befunde gestützt.

Anders verhält es sich mit der Frage, ob man auf Grund der spezifischen Wirkung von Trypsin im Vergleich zu Pepsin auf die Natur der in Frage kommenden Eiweißkörper schließen, d. h. ob man dessen Polypeptidcharakter damit als erwiesen annehmen soll.

Zunächst muß diesbezüglich nochmals darauf hingewiesen werden, daß die Untersuchung peptischer Fermente in ihrer Wirkung auf Katalase unter den für diese Fermente optimalen Bedingungen nicht durchführbar ist, wegen der Empfindlichkeit der Katalase gegen freie Säure. Bisher ist nur als erwiesen zu betrachten, daß in sehr schwachsaurer Lösung, bei der beispielsweise die Verdauung von Edestin noch sehr prompt vor sich geht, Pepsin auf die Katalase nicht einwirkt, wenn man diejenige Wirkung unberücksichtigt läßt, welche die Säure für sich ausübt. Anderseits scheint die Wirkung von Verdauungsfermenten auf die verschiedenen Eiweißkörper, vor allem auch in den angewendeten Verdünnungsgraden noch nicht genügend durchforscht, um ohne weiteres wegen des Ausbleibens einer peptischen Verdauung die Polypeptidnatur des Substrats zu postulieren. Es kann sich um quantitative, d. h. Geschwindigkeitsunterschiede handeln, die unter den Versuchungsbedingungen scheinbar qualitativen Charakter annehmen. Daß auch sehr verwandte Eiweißkörper wie die Albuminarten sich quantitativ recht verschieden gegen Proteasen verhalten können, haben z. B. die Verdauungsversuche von Umber,1) welche an krystallisierten Präparaten, also an sehr reinem Material vorgenommen wurden, gezeigt. Ohne die Wichtigkeit dieser Einwände zu unterschätzen, wird man aber doch den Sachverhalt einstweilen am einfachsten so deuten können, daß der wirksame eiweißartige Stoff in den aktiven tierischen Extrakten polypeptidähnlichen Charakter besitzt. Gegen diese Auffassung spricht auch nicht die Tatsache, daß das mit trypsinähnlichen Eigenschaften ausgestattete Papayotin bei der Katalase versagt. Gerade für dieses Ferment ist sehr häufig eine eigentümliche Indifferenz gegen Eiweißstoffe sestgestellt worden, und nach Emmerling?) scheint z. B. bei der Verdauung von Fibrin mit Papayotin gerade die Spaltung der Albumosen und Peptone sehr unvollständig und träge zu verlaufen.

Abgesehen von diesem für die Aufklärung der chemischen Natur der Katalase nicht unwichtigen Ergebnisse scheint mit

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 25, S. 270.

^{*)} Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 35, S. 695 (1902).

der dargelegten spezifischen Trypsinempfindlichkeit der Katalase die Möglichkeit eines Nachweises tryptischer Verdauungsfermente einerseits und vielleicht auch ein neuer Weg gegeben zu sein, die tryptische Verdauung messend zu verfolgen, Aufgaben, mit deren Durchführung der eine von uns beschäftigt ist.

Nicht unerwähnt sei auch der Hinweis darauf, daß durch den engen Anschluß des Krebsmagensaftes an das Trypsin in seinem Verhalten gegen Katalase dessen nicht ganz unwidersprochen tryptische Natur¹) von neuem erwiesen ist.

Die Unterschiede in der Resistenz der Blutkatalase gegen das tryptische Ferment der Wirbeltiere (Trypsin) und Arthropoden (Krebsmagensaft), die beide in der angewandten Konzentration auf Edestin annähernd gleich stark wirkten, deuten vielleicht auf eine spezifische Angriffsfähigkeit dieser beiden Fermente hin. Anderseits haben wir bei vorläufigen Versuchen beobachtet, daß Katalaselösungen verschiedener Herkunft von der gleichen Protease verschieden zerstört wurden. Weitere Versuche, mit denen wir beschäftigt sind, müssen lehren, ob es sich hier wirklich um spezifische Unterschiede verschiedener Proteasen resp. Katalasen handelt.

¹⁾ Vgl. Biedermann, Ernährung in: Handb. d. vergl. Phys., Bd. 1, S. 49, 672 ff.