

Über Pepsinbestimmung.

Von

L. J. Geselschap.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Universität Utrecht.)

(Der Redaktion zugegangen am 20. Mai 1915.)

Die große Zahl der für die Pepsinbestimmung empfohlenen Methoden weist schon darauf hin, daß es schwierig ist, diese Bestimmung mit befriedigender Genauigkeit auszuführen. Immer hat man dabei den Zweck, die Geschwindigkeit, mit welcher irgend ein Eiweißstoff von der pepsinhaltigen Lösung verdaut wird, festzustellen, ob man nun die Zeit bestimmt, in welcher eine gegebene Eiweißmenge verdaut wird, oder die Eiweißmenge bestimmt, welche in einer voraus gewählten Zeit verdaut wird. Dabei wird aber unter Verdauung nicht immer dasselbe verstanden. In manchen Fällen wird damit die Auflösung von festem Eiweiß, Fibrin, geronnenem Hühnereiweiß, usw. gemeint. In anderen Fällen dagegen soll Verdauung Spaltung von Eiweißkörpern in einfachere Verbindungen, Albumosen, Polypeptide und, wenn auch bei der Pepsinverdauung in sehr geringem Maße, freie Aminosäuren bedeuten.

Mit keiner Methode ist es gelungen eine feste, genau zutreffende Regel aufzufinden für die Geschwindigkeit, mit welcher Pepsin, in wechselnder Menge, bei einem bestimmten Salzsäuregehalt der Flüssigkeit und bei einer bestimmten Temperatur, Eiweiß verdaut. Es scheint auch wohl zweifelhaft, ob solch eine feste Regel erwartet werden darf, da sich an die Auflösung des Eiweißes als Acidalbumin die Bildung von primären Albumosen, welche selbst wieder gespalten werden, unmittelbar anschließt. Es kann ja nicht a priori als feststehend betrachtet werden, daß, bei Änderungen des Pepsin-gehaltes der Flüssigkeit, auch wenn die Temperatur und der

Säuregrad gleich bleiben, diese Spaltungen untereinander gleichen Schritt halten werden. Auch die Geschwindigkeit, mit welcher Eiweiß in Acidalbumin verändert und aufgelöst wird, kann vielleicht von der Bildung von anderen Verdauungsprodukten beeinflusst werden. Die jetzt zur Verfügung stehenden Methoden gestatten eine einigermaßen genaue Verfolgung der Eiweißspaltung bei der Pepsinverdauung nicht. Die Zahl der dabei frei kommenden Carboxylgruppen ist für eine genaue Bestimmung mit der Sörensenschen Formoltitration zu gering, während die anderen für diesen Zweck empfohlenen Methoden — polarimetrische Bestimmung, oder direkte quantitative Bestimmung der verschiedenen Spaltungsprodukte — nur eine Schätzung zulassen.

Von den Methoden zur Pepsinbestimmung habe ich diejenige von Mett, von Grützner, von Volhard und von Fuld-Levison ziemlich eingehend geprüft. Die dabei erhaltenen Ergebnisse habe ich an anderer Stelle ausführlich mitgeteilt.¹⁾ Da diese Ergebnisse in allen Hauptsachen mit den von andern schon beschriebenen übereinstimmen, kann ich mich hier darüber kurz fassen.

Als Enzym verwendete ich nach den von Pekelharing beschriebenen Methoden aus der Magenschleimhaut des Schweines, oder aus dem bei Scheinfütterung erhaltenen Magensaft des Hundes bereitetes Pepsin, oder auch den filtrierten, übrigens aber unveränderten Magensaft des Hundes.

Für die Ausführung der Mettschen Methode wurden die Eiweißröhrchen in folgender Weise hergestellt. Glasröhrchen von 2 mm innerem Durchmesser und 25 cm Länge wurden erst einen halben Tag in starke Natronlauge, dann, nach Auspülen mit Wasser, einen halben Tag in eine Lösung von Kaliumbichromat und Schwefelsäure gelegt, darauf sorgfältig mit destilliertem Wasser ausgewaschen, getrocknet, an beiden Enden ausgezogen und dann mit geklopftem Hühnereiweiß, welches durch Verbleib während etwa 24 Stunden im luft-

¹⁾ Over bepaling van het gehalte aan pepsine in natuurlijk en kunstmatig maagsap. Diss. Utrecht, 1915. Für die Literatur verweise ich nach Waldschmidt, Pflügers Archiv, Bd. 143, S. 189.

leeren Raum möglichst gut von Luft befreit worden war, gefüllt. Jetzt wurden die Röhrcn an beiden Enden zugeschmolzen und in kochendes Wasser getaucht, welches noch 5 Minuten kochend gehalten wurde. Die Röhrcn blieben im Wasser, bis dasselbe zur Zimmertemperatur abgekühlt war und wurden dann in Stückchen von $1\frac{1}{2}$ cm Länge zerschnitten, welche in 0,2%igem HCl mit einigen Thymolkrystallen aufbewahrt wurden. Alle Röhrcn, in welchen noch ein Luftbläschen zu beobachten war, oder welche eine nicht ganz glatte Schnittfläche des Eiweißes zeigten, wurden als unbrauchbar verworfen.

Für jeden Versuch wurden 2 Röhrcn mit 10 ccm Pepsinlösung in einem Petrischälchen bei $38-39^{\circ}$ C. digeriert. Nach bestimmter Zeit wurde dann die Länge der gelösten Eiweißsäulchen unter dem Mikroskop, bei sehr schwacher Vergrößerung, mittels eines geeichten Okularmikrometer gemessen. Bei jeder Bestimmung wurden also 4 Zahlen erhalten, deren halbe Summe die mittlere Verdauung in einem Röhrcn angab.

In einer großen Zahl von Versuchen fand ich die Verdauung, unter übrigens gleichen Verhältnissen, gleichmäßig mit der Zeit und ungefähr dem Quadrat des Pepsingehaltes proportional fortschreitend. Diese Beziehung wurde nicht nennenswert geändert, wenn die Röhrcn mit der Flüssigkeit während der Digestion in schaukelnder Bewegung gehalten wurden, obgleich dann die absolute Menge des verdauten Eiweißes zunahm. Auch Vermehrung der mit den 2 Röhrcn digerierten Flüssigkeitsmenge verursachte keine merkbare Änderung des Verhältnisses. Die Längen der vier, in zwei zusammengehörigen Röhrcn aufgelösten Eiweißsäulchen zeigten keinen, oder einen nur sehr geringen Unterschied.

Für die Bestimmung nach Grützner bereitete ich das Karminfibrin als trockenes Pulver. Nach Färbung und Auswaschen mit Wasser wurde das Fibrin im Vakuumexsikkator bei Zimmertemperatur getrocknet und dann in einem eisernen Mörser fein zerrieben und gesiebt. Die Bestimmung machte ich mit dem von Grützner¹⁾ beschriebenen Kolorimeter.

¹⁾ Pflügers Archiv, Bd. 144, S. 545.

Für jeden Versuch wurden gleiche, abgewogene Fibrinmengen in eine Reihe von Reagenzröhrchen gebracht. In verschiedenen Versuchen wechselte diese Menge von 50—250 mg. Bevor die zu prüfende Pepsinlösung zugesetzt wurde, brachte ich in jedes Röhrchen soviel 0,1%igen HCl, daß nach dem Pepsinzusatz das ganze Volumen 10 ccm betrug. Das Pepsin wurde erst zugesetzt, nachdem das Fibrin wenigstens 10 Minuten unter der Salzsäure gestanden hatte, da das Fibrin, wenn es nicht völlig geschwollen ist, weniger schnell verdaut wird. Nach dem Pepsinzusatz wurde der Inhalt jedes Röhrchen einmal in der Minute gut gemischt, durch Rühren mit einem Glasstab, oder durch das mit dem Daumen geschlossene Röhrchen einmal umzudrehen. Blieben die Röhrchen während der Digestion ruhig stehen, so war die Verdauung ungleichmäßig.

Eine bestimmte Regel wurde auch bei dieser Methode nicht gefunden. Wenn aber die Fibrinmenge nicht zu klein genommen und die Digestionsdauer nicht zu lange war, wurde die Verdauung, ohne beträchtliche Abweichungen, sowohl der Zeit als dem Pepsingehalt proportional gefunden. Bei längerer Dauer der Digestion, 20 oder 25 Minuten wurde, am meisten bei starken Pepsinlösungen, in den letzten Minuten eine ansehnliche Verlangsamung der Verdauung beobachtet, wie leicht erklärlich ist durch die Verkleinerung der Oberfläche wo das Pepsin angreifen muß, je nachdem mehr vom Fibrin gelöst worden ist.

Wünscht man die mit verschiedenen Pepsinpräparaten erhaltenen Ergebnisse untereinander zu vergleichen, so ist es unbedingt nötig, daß das Fibrin immer in derselben Weise behandelt und aufbewahrt worden ist. Zum Beweis möge folgendes Beispiel erwähnt werden.

Frisches Fibrin wurde mit Karmin gefärbt, getrocknet und pulverisiert. Ein Teil dieses Pulvers wurde trocken aufbewahrt, ein anderer Teil wurde unter Alkohol gebracht, nach zwei Monaten mit Wasser ausgewaschen und wieder getrocknet. Jetzt stellte es sich heraus, daß letzteres Präparat von Pepsin, unter übrigens genau denselben Verhältnissen, etwa halb so schnell als das nicht mit Alkohol in Berührung gewesene Fibrin verdaut wurde.

Färbung des Fibrins mit Berlinerblau, in der von Sahli angegebenen Weise, lieferte mir keinen Vorteil.

Bei der Prüfung der Volhardschen Methode fand ich größere Abweichungen der Verdauungsgeschwindigkeit, sowohl in bezug auf die Digestionszeit, als in bezug auf den Pepsingehalt, als bei den Methoden von Mett und von Grützner. Weil die Volhardsche Methode außerdem umständlicher ist, scheint dieselbe mir für Pepsinbestimmung nicht empfehlenswert zu sein.

Beim Gebrauch der Methode von Fuld und Levison stieß ich auf eine Schwierigkeit von anderer Art.

Ich führte diese Methode so aus, daß zu 1 ccm 0,1%iges Edestin in 0,11%iger HCl gelöst, 3 ccm 0,1%iger HCl und 1 ccm, gewöhnlich in 1%iger HCl gelöstes Pepsin, zugesetzt wurde. Jetzt wurde bestimmt, nach wie langer Zeit die Lösung durch Zusatz von 2 ccm einer gesättigten NaCl-Lösung nicht mehr getrübt wurde. Ich fand dabei, daß die Zeit, in welcher das Edestin, unter übrigens denselben Verhältnissen, soweit verdaut war, der Pepsinkonzentration ziemlich genau proportional war. Das war aber nur so lange der Fall, als in den verschiedenen Versuchen Pepsin derselben Tierart verglichen wurde. Beim Vergleich von Pepsin des Hundes mit demjenigen des Schweines, stellte es sich heraus, daß das erstgenannte das Edestin nicht unbeträchtlich schneller verdaute als das Schweinspepsin, obgleich letzteres, nach den Methoden von Mett und von Grützner untersucht, größere verdauende Kraft zeigte, als dasjenige des Hundes. Diesen Unterschied fand ich nicht nur in bezug auf das gereinigte Pepsin, sondern auch beim mittels Salzsäure bereiteten Extrakt der Magenschleimhaut. So fand ich die verdauende Kraft eines Schweinsmagenextraktes, nach Fuld-Levison untersucht, derjenigen einer 0,2%igen, nach Mett und nach Grützner einer 0,81 bis 0,85%igen Lösung vom Pepsin des Hundes gleich. Dieser Befund macht es mir zweifelhaft, ob die Edestinmethode, wenn sie auch empfindlich und ziemlich leicht ausführbar ist, als allgemein anwendbar betrachtet werden darf. Außerdem habe ich bei vergleichenden Versuchen gefunden, daß die Empfindlichkeit dieser Methode nur dann groß ist, wenn man die Ge-

schwindigkeit, mit welcher das Edestin verdaut wird, mit nicht viel weniger als 10 Verdünnungen der Pepsinlösung untersucht, wodurch die Methode ein wenig umständlich wird.

Methoden zur Bestimmung des Pepsingehalts von Flüssigkeiten sind in erster Stelle erwünscht für die Klinik. Von solchen Methoden muß verlangt werden, daß sie leicht ausführbar sind und schnell Ausschlag geben. Dieser Forderung genügen die Grütznersche und Mettsche Methoden. Die erstgenannte kann sogar sehr schnell, innerhalb einer Viertelstunde, das Ergebnis liefern. Auch ist diese Methode äußerst empfindlich, sodaß es möglich ist, damit die verdauende Kraft eines Magensaftes zu bestimmen, welcher so schwach wirkt, daß mit der Mettschen Methode kaum oder gar keine Verdauung gefunden wird. Nur muß in Betracht genommen werden, daß ausgeheberter Magensaft wohl immer die Verdauung hemmende Stoffe enthält und deshalb vor der Prüfung mit Salzsäure der gewünschten Stärke verdünnt werden muß.

Die Bestimmung selbst ist, beim Gebrauch von Grützners sehr zweckmäßigem Kolorimeter, leicht und schnell auszuführen. Die Bereitung des Karminfibrins ist, weil dasselbe, für die Zuverlässigkeit des Ergebnisses, sehr gleichmäßig fein zerrieben sein muß, ein wenig mühselig und zeitraubend, die Schwierigkeit ist aber nicht groß, weil man einen beträchtlichen Vorrat zu gleicher Zeit machen kann, der, trocken aufbewahrt, sehr lange Zeit brauchbar bleibt. Wichtiger, in bezug auf die Anforderungen, welche die Ausführung der Methode stellt, ist es, daß für jede Bestimmung gleiche, mit genügender Genauigkeit abgewogene Fibrinmengen in einige Röhrchen gebracht werden müssen und daß es notwendig ist, während der Verdauung, zur gleichmäßigen Verteilung des Fibrins, die Flüssigkeit wiederholt, z. B. 1 mal in der Minute, zu rühren, sodaß während des ganzen Versuches die Aufmerksamkeit des Untersuchers völlig in Anspruch genommen wird. Die Unterbrechung der Digestion findet in sehr einfacher Weise, durch Filtrieren über Glaswolle, was nur einige Sekunden erfordert, statt. Man kann dann, ohne große Fehler, den Pepsingehalt der Intensität der roten Farbe, welche die Flüssigkeit zeigt, proportional stellen.

Es ist wünschenswert, die Digestion nicht lange Zeit, im allgemeinen nur 5 bis 10 Minuten, dauern zu lassen, weil, wie ich in zahlreichen Versuchen gesehen habe, bei längerer Dauer, infolge der Verringerung der noch nicht aufgelösten Pepsinmenge, die Wirksamkeit des Pepsins allmählich schwächer zu werden scheint. So würde man, beim Vergleichen von zwei Lösungen von verschiedenem Gehalt, bei einer Verdauung von z. B. 20 Minuten, wenn wenigstens die Fibrinmenge nicht sehr groß genommen war, in der stärksten von beiden den Pepsingehalt relativ zu klein finden. Bei der Mettschen Methode wird das Ergebnis erst nach mehreren Stunden, gewöhnlich sogar erst nach einem Tag, erhalten. Dagegenüber steht der große Vorteil, daß die Ausführung nur sehr wenig Zeit in Anspruch nimmt und nur Hilfsmittel fordert, welche auch im einfachsten Laboratorium für klinische Untersuchungen immer vorhanden sind, einen auf Körpertemperatur erwärmten Brutofen und ein Mikroskop mit Okular- und Objektivmikrometer. Hat man einmal ein Mikroskop mit sehr schwacher Vergrößerung (ich gebrauchte immer Obj. 3 von Leitz, nach Abschrauben der Frontlinse) und Okularmikrometer zur Hand, so braucht man für die Kontrolle der Teilschale mittels Objektivmikrometer, und zur Messung der zwei verdauten Eiweißsäulchen in jedem der zwei Röhrchen, nicht mehr als einige Minuten. Öfters ist die Grenze des unverdauten Eiweißes nicht völlig scharf; die hierdurch verursachte Unsicherheit braucht aber, wenn die Röhrchen gut hergestellt sind, nicht mehr als 0,1 bis 0,2 mm zu betragen. Unbedingt notwendig ist es aber, die Röhrchen sorgfältig zu bereiten. Das oben beschriebene Verfahren hat mich immer ganz befriedigt. Es ist leicht, ein paar hundert Röhrchen zu gleicher Zeit herzustellen. In 0,2%iger Salzsäure, mit einigen Thymolkrystallen aufbewahrt, bleiben dieselben, bei gewöhnlicher Zimmertemperatur, Monate lang unverändert. Enthalten die Röhrchen aber Luftbläschen, dann können bei der Messung begreiflicherweise große Fehler gemacht werden. Deshalb ist es so wichtig, daß das Eierklar, bevor es in die Röhrchen aufgesogen wird, einige, am besten 24 Stunden im luftleeren Raum gestanden hat.

In Übereinstimmung mit den meisten Autoren fand ich, daß man die Pepsinkonzentration, wenn diese wenigstens derartig ist, daß die Verdauung in 24 Stunden nicht viel mehr als 4 mm (2 mm an jedem Ende) beträgt, ohne Fehler von Bedeutung, dem Quadrat der Anzahl Millimeter verdauten Eiweißes proportional setzen kann.

Die Methode würde unnötig umständlich gemacht werden, wenn man die Röhren während der Verdauung in Bewegung hielt, wobei, wie ich mitgeteilt habe, die Verdauungsgeschwindigkeit zwar zunimmt, die Quadratregel aber unverändert bleibt.

Ist der Pepsingehalt der zu prüfenden Flüssigkeit sehr klein, so wird das Hühnereiweiß so langsam gelöst, daß die Mettsche Methode nicht mehr brauchbar ist. Dann gibt aber die Grütznersche noch deutliche Ausschläge.

Die Empfindlichkeit der Mettschen Methode kann erhöht werden, indem man die Röhren, statt mit Hühnereiweiß, mit Blutserum beschickt und das zur Gerinnung bringt. Mit Versuchen in dieser Richtung habe ich mich aber nicht beschäftigt, weil ja, auch bei äußerst schwach wirkendem Magensaft, die Grütznersche Methode allen billigen Anforderungen genügt.

Mittels dieser beiden Methoden ist es also möglich, mit einfachen Hilfsmitteln und in wenig zeitraubender Weise, den Pepsingehalt irgend eines Magensaftes, in Verhältnis zu demjenigen einer andern Pepsinlösung, zu bestimmen. Zwar wird dabei eine Genauigkeit, wie man diese bei chemischen Untersuchungen gewohnt ist zu fordern, keineswegs erreicht. So groß braucht aber bei klinischen Untersuchungen die Genauigkeit meistens nicht zu sein. Die Schwankungen der chemischen Änderungen im menschlichen Körper sind so groß, und von so vielen unberechenbaren Verhältnissen abhängig, daß, bei der Beurteilung von beobachteten Abweichungen, meistens nur beträchtliche Unterschiede berücksichtigt werden dürfen. So ist es auch in bezug auf den Pepsingehalt des Magensaftes. Geringfügige Unterschiede darin veranlassen nicht zu Schlußfolgerungen über die Funktion der Magenschleimhaut. Beträchtliche Abweichungen lassen sich aber, sowohl mit der Mettschen als mit der Grütznerschen Methode leicht und sicher nachweisen.

Es ist erwünscht den in irgend einem Magensaft gefundenen Pepsingehalt in einem festen Maß ausdrücken zu können, mittels einer Standardlösung von Pepsin, welche immer in derselben Stärke hergestellt werden kann.

Extrakte von Magenschleimhaut sind dazu nicht brauchbar, weil die verdauende Kraft derselben in verschiedenen Fällen zu viel wechselt. Dasselbe muß von den Handelspräparaten von Pepsin gesagt werden. Pepsin in der von Pekelharing angegebenen Weise bereitet,¹⁾ kann aber, die für klinische Zwecke erforderliche Genauigkeit in Betracht genommen, als Standardpräparat verwendet werden.

Aus der Magenschleimhaut des Schweines und aus dem Magensaft des Hundes hat Pekelharing einen hochkomplizierten Eiweißstoff bereitet, welcher in besonders hohem Maß die Wirkung von Pepsin zeigt und diese Wirksamkeit gerade bei der Temperatur verliert, bei welcher die salzsaure Lösung dieses Eiweißes, bei schneller Erhitzung koaguliert, bei langsamer Erhitzung ohne einen Niederschlag zu geben zersetzt wird. Aus dem, mittels Scheinfütterung erhaltenen Magensaft des Hundes bereitet, war dieser Stoff völlig farblos, phosphorfrei, und zeigte die elementare Zusammensetzung, obgleich die Bereitung nicht immer in derselben Weise stattfand, eine für Eiweißstoffe befriedigende Konstanz. Auf diese und andere Gründe hielt Pekelharing es für nicht unwahrscheinlich, daß dieser Eiweißstoff als das Enzym, Pepsin, selbst betrachtet werden dürfte.

Aus der Magenschleimhaut des Schweines bereitet, war dieser Stoff immer, obgleich nur in geringem Maß, mit Farbstoff und mit P-haltigen Bestandteilen verunreinigt.

In Salzsäure gelöst, verdaut dieser Stoff Eiweiß auch dann noch kräftig, wenn die Lösung so stark verdünnt ist, daß sie die Xanthoproteinsäurereaktion nicht mehr gibt. Die bisweilen gemachte Bemerkung, daß Pepsin nicht ein Eiweißstoff sein kann, da man aus der Magenschleimhaut Extrakte darstellen kann, welche Eiweiß verdauen und dennoch keine Eiweißreaktionen zeigen, ist also nicht stichhaltig.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 22, S. 233 und Bd. 35, S. 8.

Soviel ich weiß, ist nur Grützner auf Grund eigener Versuchen der Auffassung Pikelharings entgegengetreten. Grützner bestimmte die verdauende Kraft eines mit Salzsäure aus getrockneter Magenschleimhaut des Schweines bereiteten Extraktes und berechnete, daß dieselbe etwa dreimal größer war als diejenige einer Lösung von «reinem Pepsin», mit ungefähr demselben Gehalt an gelösten Stoffen¹⁾.

Diese Berechnung beruhte aber auf Mißverständnis. Grützner nahm an, daß Pikelharing, mit der Mitteilung, daß 0,001 mg seines Pepsins, in 6 ccm 0,2%igem HCl gelöst, in etwa 20 Stunden eine Fibrinlocke verdaute, geglaubt hatte, eine Bestimmung der verdauenden Kraft anzugeben, während aus dieser Mitteilung tatsächlich nicht mehr zu lesen war, als eine Angabe, aus welcher hervorgehen sollte, daß der von ihm bereitete Eiweißstoff kräftige Pepsinwirkung zeigte. Man kann ja doch nicht von einer Bestimmung der verdauenden Kraft reden, wenn nichts gesagt wird über die Größe der Fibrinlocke, und über die Weise, in welcher das Fibrin — in Alkohol, in Glycerin, oder vielleicht anders — aufbewahrt war, was, wie ich schon mitgeteilt habe, einen großen Unterschied macht.

Später hat Grützner in liebenswürdiger Weise das von Pikelharing bereitete Pepsin untersucht und neuerdings mitgeteilt²⁾, daß er die Wirkung desselben auf Fibrin 20 bis 30mal stärker fand als die Wirkung des damit verglichenen Extrakt der Magenschleimhaut.

Diese Substanz, deren besonders große Wirksamkeit jetzt auch von Grützner festgestellt worden ist, kann nur wenig mit anderen Bestandteilen verunreinigt sein. Für die ziemlich große Reinheit spricht auch die nahezu konstante Wirksamkeit, auch wenn die Präparate nicht in genau derselben Weise hergestellt worden sind. Zum Beweise werde ich einige Zahlen mitteilen.

Nach der Mettschen Methode wurde die verdauende Kraft von drei Präparaten bestimmt, in der früher beschriebenen Weise aus der Digestionsflüssigkeit von fünf Magen-

¹⁾ Pflügers Archiv, Bd. 144, S. 545.

²⁾ Pflügers Archiv, Bd. 161, S. 1.

schleimhäuten des Schweines in 0,5%iger HCl bereitet. Die Digestion dauerte vier Tage.

Präparat I wurde mittels Dialyse der klar abfiltrierten Digestionsflüssigkeit erhalten. Der Niederschlag wurde, abzentrifugiert, bei 37° C. in möglichst wenig 0,2%iger HCl gelöst. Die bei 37° C. filtrierte Lösung wurde gegen destilliertes Wasser dialysiert und das ausgeschiedene Pepsin abfiltriert, in vacuo getrocknet und zerrieben.

Präparat II wurde aus der dialysierten und dann zentrifugierten Digestionsflüssigkeit mittels Fällung mit Bleiessig und Ammoniak erhalten. Nach Zersetzung des Niederschlages mit Oxalsäure und Entfernung des Bleioxalates wurde aus der Lösung, mittels Dialyse, Pepsin gefällt. Das Pepsin wurde wieder in 0,2%iger HCl gelöst. Aus dieser Lösung wurde das Pepsin mittels Dialyse ausgeschieden, abfiltriert und getrocknet.

Präparat III. Die von der Bleifällung herrührende, dialysierte und vom dabei gefälltem Pepsin befreite Flüssigkeit wurde mit Ammonsulfat gesättigt. Der Niederschlag wurde, mittels Dialyse gegen 0,2%ige HCl, von Salz befreit und bei 37° C. in 0,2%iger HCl gelöst. Aus dieser Lösung wurde durch Dialyse wieder ein Niederschlag von Pepsin erhalten, welches, ebenso wie die beiden vorigen Präparate, in vacuo getrocknet und zerrieben wurde.

Zur Bestimmung der verdauenden Kraft dieser Präparate wurde von jedem eine 0,1%ige Lösung gemacht in 0,2%iger HCl. Von jeder Lösung wurde 0,5 ccm mit 9,5 ccm 0,2%iger HCl und zwei Eiweißröhrchen 24 Stunden digeriert. Jedes Schälchen enthielt also 0,5 mg Pepsin.

Die Messung ergab: I 5,5 mm, II 5,6 mm, III 5,3 mm.

Drei andere Präparate, ganz in derselben Weise aus fünf Magenschleimhäuten bereitet, wurden ebenso untersucht. 0,5 mg von Präp. I verdaute in 24 Stunden 5,3 mm, von Präp. II 5,4 mm, von Präp. III 5,4 mm.

Die Unterschiede sind so gering, daß das in dieser Weise hergestellte Pepsin wohl als ein praktisch brauchbarer Standard betrachtet werden darf. Wird der Stoff trocken und gegen Licht geschützt aufbewahrt, so bleibt die Wirksamkeit lange

Zeit unverändert. 0,5 mg eines Präparates, welches mehr als zwei Jahre im Exsikkator im Dunkeln gestanden hatte, verdaute, in 10 ccm 0,2% iger HCl mit 2 Eiweißröhrchen 24 Stunden digeriert, 5,5 mm, also genau ebensoviel als das frisch bereitete Pepsin.

Aus dem, bei Scheinfütterung erhaltenen Magensaft des Hundes bereitetes Pepsin würde als Standardpräparat dem Schweinspepsin vorzuziehen sein, weil es reiner erhalten werden kann, wenn sich der Bereitung desselben in größeren Mengen nicht so große Schwierigkeiten entgegenstellten. Ein Hund mit querdurchschnittenem Oesophagus fordert eine sehr sorgfältige Verpflegung. Die Nahrung muß jeden Tag durch die Magenfistel zugeführt und nicht nur sorgfältig bereitet werden, sondern auch mit Rücksicht auf den fortwährenden Speichelverlust und auf den wiederholten Verlust an Chloriden, infolge der Sammlung von größeren Mengen von Magensaft, zweckmäßig zusammengesetzt sein. Außerdem muß, wegen des Abfließen des Speichels am Hals, besonders auf das Reinhalten des Tieres geachtet werden. Eine der allerersten Bedingungen für das Erhalten von normalem, kräftig wirkendem Magensaft ist ja, daß der Hund in jeder Hinsicht gut genährt und gesund bleibt.

Man ist dann aber noch nicht immer sicher, einen allen Anforderungen genügenden Magensaft zu erhalten. Ich stieß bei dem zu meiner Verfügung stehenden Hund auf eine Schwierigkeit, welche bei dem früher von Pikelharing für seine Untersuchungen gebrauchten Hund sich nicht zeigte. Obgleich die Gesundheit des Hundes, besonders in bezug auf die Verdauung, nichts zu wünschen übrig zu lassen schien, war doch der Magensaft erst sehr wenig, später aber allmählich mehr, mit bräunlichem Schleim vermischt. Nur mittels Filtration durch zusammengepreßten Brei von Filtrierpapier konnte der Saft völlig klar und farblos erhalten werden. Erst nach längerer Zeit wurde die Ursache dieser Abweichung klar. Infolge von Bindegewebswucherung neben der Kanüle war eine Schleimhautfalte, der inneren Platte der Kanüle entlang, in die Richtung der Öffnung, gedrungen. Schließlich wurde

die Falte so weit vor die Öffnung der Fistel geschoben, daß es nicht mehr möglich war, die Nahrung durch die Fistel in den Magen hineinzubringen, sodaß der Hund für meinen Zweck völlig unbrauchbar wurde. Als diese Schleimhautfalte in der Kanüle sichtbar wurde, stellte es sich heraus, daß sie erodiert war und bei der geringsten Berührung blutete. So wurde es begreiflich, daß schon einige Monate, bevor der hervorgeschobene Schleimhautwulst sichtbar wurde, der Magensaft mit ein wenig blutigem Schleim verunreinigt wurde. Diese Verunreinigung, wie geringfügig sie auch war, verminderte die Wirksamkeit des Pepsins nicht unbeträchtlich. Das mittels Dialyse des filtrierten Magensaftes ausgeschiedene Pepsin löste sich, auch bei Erwärmung auf Körpertemperatur, nur schwierig in 0,2%igem HCl und zeigte eine relativ geringe verdauende Kraft. Bei der Dialyse dieser neuen Lösung gegen destilliertes Wasser wurde Pepsin gefällt, welches nicht besser, bisweilen sogar noch schwächer wirksam war. Ich lasse hier einige Beispiele folgen.

Von zwei Präparaten, I, mittels Dialyse des Magensaftes, II, durch Lösung des so gebildeten Niederschlages in 0,2%igem HCl und nochmaliges Dialysieren, bereitet, wurden 0,04%ige Lösungen in 0,2%iger HCl gemacht. Von beiden Lösungen wurden je 10 ccm mit zwei Mettschen Röhren bei 38° C. digeriert. Die Verdauung betrug:

nach 6 Stunden	I 1,17 mm	II 1,15 mm
» 25 »	I 5,70 »	II 5,68 »

Beide Präparate verdauten also das Eiweiß in gleicher Geschwindigkeit.

Dieselben Lösungen wurden nach Grützners Methode untersucht.

In 5 Röhren, je mit 50 mg Karminfibrin und 9 ccm 0,1%iger HCl, wurde gebracht:

- a) 1 ccm 0,04%iges Pepsin
- b) $\frac{1}{2}$ » » » und $\frac{1}{2}$ ccm 0,2%ige HCl
- c) $\frac{1}{3}$ » » » » $\frac{2}{3}$ » » »
- d) $\frac{1}{4}$ » » » » $\frac{3}{4}$ » » »
- e) $\frac{1}{5}$ » » » » $\frac{4}{5}$ » » »

Das Fibrin war vor dem Pepsinzusatz 20 Minuten mit der Salzsäure in Berührung gelassen.

Die kolorimetrische Bestimmung gab die folgenden Werte:

nach 10 Min.	I	a)	1,7	b)	1,0	c)	0,6	d)	0,4	e)	0,3
" 10 "	II	a)	1,65	b)	1,0	c)	0,6	d)	0,5	e)	0,25
" 15 "	I	a)	2,6	b)	1,5	c)	1,0	d)	0,7	e)	0,5
" 15 "	II	a)	2,5	b)	1,5	c)	0,9	d)	0,7	e)	0,5

Auch in dieser Weise wurden also die Präparate gleich stark gefunden. Schließlich wurden die beiden Lösungen nach Fuld-Levison untersucht. In jedes von je 5 Röhrchen wurde gebracht: 1 ccm 0,1%iges Edestin mit 3 ccm 0,1%iger HCl und 1 ccm Pepsinlösung, genau so wie in dem vorigen Versuch mit 0,2%iger HCl verdünnt. Der Versuch wurde in 3 Reihen, mit verschiedener Digestionsdauer, angestellt und ergab folgendes:

nach 5 Min.	I	a)	—	b)	+	c)	++	d)	++	e)	++
" 5 "	II	a)	—	b)	+	c)	++	d)	++	e)	++
" 10 "	I	a)	—	b)	—	c)	+	d)	++	e)	++
" 10 "	II	a)	—	b)	—	c)	+	d)	++	e)	++
" 15 "	I	a)	—	b)	—	c)	—	d)	+	e)	++
" 15 "	II	a)	—	b)	—	c)	—	d)	+	e)	++

Ein Unterschied zwischen beiden Präparaten wurde also auch hier nicht gefunden.

In anderen Fällen aber war es anders, wie aus folgendem Beispiel hervorgeht.

Zwei Präparate, I und II, ganz in derselben Weise wie im vorigen Fall bereitet, wurden untersucht.

1° nach der Mettschen Methode.

Von jedem Präparat wurden zwei Lösungen gemacht in 0,2%iger HCl, die eine mit 0,01%, die andere mit 0,005% Pepsin. 10 ccm jeder Lösung wurde 20 Stunden mit je zwei Eiweißröhrchen digeriert. Die Verdauung betrug:

I	0,01%	2,57 mm	0,005%	1,63 mm
II	0,01%	1,83 "	0,005%	1,27 "

Nach der Borissowschen Regel würde also das Verhältnis der Konzentration in I und II sein: $(2,57)^2 : (1,83)^2$, oder $(1,63)^2 : (1,27)^2$, also 1,9 : 1, oder 1,65 : 1.

2° nach der Grütznerschen Methode.

Von jedem Präparat wurde eine Lösung in 0,2%iger HCl gemacht mit 0,04% Pepsin. In zwei Reihen von je 4 Röhrchen mit 50 mg Karminfibrin und 9 ccm 0,1%iger HCl, wurde, nach-

dem das Fibrin 20 Minuten mit der Säure in Berührung gelassen war, in den unten angegebenen Verdünnungen, Pepsin zugesetzt. Nach 15 Minuten wurde die Verdauung bestimmt.

1 ccm 0,04% iges Pepsin	I	7,1	II	4,8
1/2 » » » und 1/2 ccm 0,2% iger HCl	I	3,8	II	2,4
1/4 » » » » 3/4 » » »	I	2,0	II	1,4
1/3 » » » » 2/3 » » »	I	0,9	II	0,7

Nach dieser Bestimmung wirkt I etwa 1 1/2 mal so stark als II. 30 wurde die Edestinmethode angewandt.

Zwei Reihen von Röhren, mit je 1 ccm 0,1% iger Edestinlösung und 3 ccm 0,1% iger HCl wurden mit Pepsin versetzt, in derselben Verdünnung als im vorigen Versuch nach Grützner. Nach einer Digestionszeit von 10 Minuten trat der Unterschied nicht deutlich hervor. Bei I sowohl wie bei II blieb die Lösung, nach Kochsalzzusatz in den Röhren, wo 1 oder 1/2 ccm Pepsinlösung zugesetzt war, ganz klar, während das Röhren mit 1/4 ccm Pepsin bei I zwar weniger getrübt wurde wie bei II, aber doch nicht klar blieb.

Ich habe deshalb den Versuch wiederholt mit zwei Reihen, jede von 10 Röhren, unter Zusatz von 1, 0,9, 0,8, 0,7 bis 0,1 ccm der Pepsinlösung, mit soviel 0,2% iger HCl, daß das Volum immer 1 ccm betrug.

Jetzt wurde folgendes gefunden:

Pepsin	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
nach 5 Min. I	—	—	—	—	—	+	++	++	++	+
» 5 » II	—	—	—	+	++	++	++	++	++	++
» 10 » I	—	—	—	—	—	—	—	—	+	++
» 10 » II	—	—	—	—	—	—	—	+	++	++

Also: in 5 Minuten ist das Edestin verdaut von 0,24 mg von I und von 0,32 mg von II; in 10 Minuten von 0,12 von I und von 0,16 von II. Nach dieser Bestimmung würde also I etwa 1,3 mal kräftiger sein als II.

Ich erwähne diesen Versuch auch als ein Beispiel, daß die Edestinmethode die Proportionalität der Verdauung mit der Digestionszeit sehr gut hervortreten läßt, daß aber die Empfindlichkeit der Methode erst groß wird, wenn viele Verdünnungen untereinander verglichen werden. In letzterer Hinsicht ver-

dient die Methode von Grützner, und auch die von Mett den Vorzug.

Immer war das Pepsin, welches nach Entfernung eines Teiles davon aus dem Magensaft, mittels Dialyse, durch halb Sättigen mit Ammonsulfat gefällt wurde, kräftiger wirksam, wenn auch nicht so kräftig als das Pepsin aus dem Schweinsmagen.

Ich gebe hier einen Versuch, in welchem vier Präparate untereinander verglichen wurden. I und II hat dieselbe Bedeutung als in den soeben erwähnten Versuchen. III ist aus dem Magensaft des Hundes, nach Dialyse und Entfernung des dabei entstandenen Niederschlages mittels der Zentrifuge, durch halb Sättigen mit Ammonsulfat gefälltes und dann weiter in der gewöhnlichen Weise gereinigtes Pepsin, IV ist Pepsin vom Schwein. Von jedem Präparat wurde eine 0,04%ige und eine 0,02%ige Lösung gemacht in 0,2%iger HCl. Von jeder Lösung wurde 10 ccm mit 2 Mettschen Röhrchen 16 Stunden digeriert. Es wurde gefunden:

	I	II	III	IV
0,04%	4,33 mm	4,38 mm	6,67 mm	8,92 mm
0,02%	3,12	3,12	4,83	7,05

Die Quadrate dieser Zahlen verhalten sich als:

	I	II	III	IV
0,04%	1	1,02	2,37	4,24
0,02%	1	1	2,4	5,1

Zur Untersuchung nach der Grütznerschen Methode wurden von jedem Präparat vier Lösungen gemacht in 0,2%iger HCl, eine von 0,04%, eine von 0,02%, eine von 0,01% und eine von 0,005%. Von jeder davon wurde 1 ccm in ein Röhrchen mit 50mg Karminfibrin und 9 ccm 0,1%iger HCl gebracht, nachdem das Fibrin eine halbe Stunde mit der Säure in Berührung geblieben war. Die Digestion dauerte, da die Zimmertemperatur ungewöhnlich niedrig war, 30 Minuten. Dann wurde gefunden:

	I	II	III	IV
0,04%	3,45	3,40	7,0	7,9
0,02%	2,1	2,2	5,0	5,7
0,01%	1,2	1,2	3,95	4,7
0,005%	0,6	0,6	2,9	3,8

Nach beiden Methoden wurde also die verdauende Kraft von I und II gleich gefunden, während III doppelt so kräftig wirksam war. Der Unterschied zwischen dem Pepsin des Hundes und demjenigen des Schweines zeigte sich bei der Mettschen deutlicher als bei der Grütznerschen Methode. Dabei ist aber in Betracht zu nehmen, daß, wie schon früher gesagt, die Grütznersche Methode, bei kräftiger Verdauung, wobei die Fibrinmenge schnell abnimmt, leicht zu niedrige Zahlen gibt. In diesem Fall ist vielleicht auch mit der Mettschen Methode die verdauende Kraft etwas zu klein gefunden, besonders bei der 0,04%igen Lösung, welche beinahe 9 mm verdaut hatte. Wenn die Länge der aufgelösten Eiweißsälchen an jedem Ende 3 mm überschreitet, wird die Verdauung merkbar verlangsamt.

Ich füge hier noch einige Beobachtungen hinzu, welche verschiedene, in der oben angegebenen Weise bereitete Präparate betreffen, I, mittels Dialyse aus dem Magensaft gefällt, II, durch Lösen von I in 0,2%iger HCl und nochmaliger Dialyse, III, durch halb Sättigen mit Ammonsulfat der, mittels der Zentrifuge von I befreiten Flüssigkeit, und Fällung des von Salz befreiten Pepsins mittels nochmaliger Dialyse.

Es wurden von I 7, von II 3 und von III 4 Präparate untersucht, in der Weise, daß wieder je 0,5 mg Pepsin in 10 ccm 0,2%igem HCl mit zwei Röhren 24 Stunden digeriert wurden. Die Messung ergab:

I	II	III
2,4 mm	2,2 mm	4,4 mm
2,0 „	2,3 „	4,0 „
2,2 „	2,1 „	4,6 „
1,9 „	—	4,8 „
2,2 „	—	—
1,8 „	—	—
2,6 „	—	—

Aus diesem Befund braucht noch nicht gefolgert zu werden, daß zwischen I und II einerseits und III andererseits der Unterschied in Reinheit, was die Menge der verunreinigenden Bestandteilen anbetrifft, groß war. Der Magensaft des Hundes enthält wohl immer etwas Schleim. Dieser ist aber durch Fil-

tration leicht zu entfernen. Hier aber war der Saft außerdem mit Blut und Gewebesaft, wenn auch in geringer Menge, verunreinigt und nur mit Mühe, durch Absaugen durch zusammengepreßtes Filtrierpapier, völlig zu klären. Es ist sehr wohl denkbar, daß die schwächere Wirkung der beiden erstgenannten Präparatenreihen an Verunreinigung mit einer die Pepsinwirkung hemmenden Substanz zuzuschreiben ist, einem Antipepsin, wenn man solch einem Namen einige Bedeutung beilegen will, einer unbekanntem Substanz, von welcher man aber weiß, daß sie in geringer Menge einen bedeutenden Einfluß üben kann.

Es schien mir nicht unmöglich diese Voraussetzung zu prüfen.

Wenn die schwächere Wirkung von Verunreinigung mit unwirksamen Stoffen abhängig ist, so würde, bei Vermischung eines schwach mit einem stärker wirksamen Präparat, in bekannter Menge, die Wirkung des Gemisches derjenigen der Summe der Teile gleich sein müssen. Enthält aber das schwach wirkende Pepsin eine die Eiweißverdauung hemmende Substanz, so würde dieselbe, in das Gemisch aufgenommen, aller Wahrscheinlichkeit nach, ihren Einfluß auch auf das kräftiger wirksame Pepsin gelten lassen und würde also die Verdauung schwächer gefunden werden müssen als der Summe der gebrauchten Enzymmengen entspricht.

Auch würde man sich denken können, daß nicht I und II verunreinigt sind, sondern das III eine aktivierende Substanz enthält, welche, besser als durch Dialyse, von Ammonsulfat gefällt wird. In diesem Fall würde die verdauende Kraft des Gemenges größer als der Summe der gebrauchten Pepsinmengen entspricht, gefunden werden müssen.

Drei Versuche wurden folgenderweise angestellt.

Von durch Dialyse aus dem Magensaft gefälltem Pepsin I und von, aus der davon abzentrifugierten Flüssigkeit mittels Ammonsulfat gefälltem, kräftiger wirksamem Pepsin III wurden, in 0,2%iger HCl, 0,1%ige Lösungen gemacht. Dann wurde 5 ccm von I mit 5 ccm von III vermischt.

Von jeder dieser 3 Lösungen wurde 0,5 ccm mit 9,5 ccm

0,2%iger HCl während 24 Stunden mit 2 Eiweißröhrchen bei 38° C. digeriert. Jedes Schälchen enthielt also 0.5 mg Pepsin. Aus der Zahl der von I und von III verdauten Millimeter konnte berechnet werden, wie viele Millimeter von dem Gemisch gelöst werden mußten, falls die geringere Wirksamkeit von I von Verunreinigung mit an sich unwirksamen Stoffen abhängig war.

Ist a die Zahl der von I und b die Zahl der von III verdauten Millimeter, so ist, nach der Borissowschen Regel, die Pepsinkonzentration im Gemisch, wenn diejenige in I = 1

gesetzt wird, $\frac{1}{2} \left(1 + \frac{b^2}{a^2} \right)$. Nennt man die Zahl der vom Ge-

misch aufgelösten Millimeter x, so ist $1 : \frac{1}{2} \left(1 + \frac{b^2}{a^2} \right) = a^2 : x^2$,

also $x = \frac{1}{2} \sqrt{(a^2 + b^2)}$.

Gefunden: A I 2,3 mm III 4,6 mm Gemisch 3 mm (ber.: 3,6 mm).

B I 1,9 „ III 4,3 „ „ 3 „ („ 3,33 „).

C I 2,3 „ III 4,5 „ „ 3 „ („ 3,56 „).

In allen drei der Versuche war also die verdauende Kraft des Gemisches kleiner als erwartet werden mußte, wenn es keine die Verdauung hemmende Stoffe enthielt.

Es ist also wohl als wahrscheinlich zu betrachten, daß der von mir untersuchte Magensaft des Hundes, infolge der Erosion eines kleinen Teiles der Magenschleimhaut, Stoffe enthielt, welche imstande sind Eiweiß gegen die Pepsinwirkung zu schützen und welche bei der Dialyse leicht, wenigstens zum Teil, mit dem Pepsin gefällt werden.

Daß das dann noch gelöst bleibende Pepsin, welches dann durch halb Sättigen mit Ammonsulfat aus der Lösung gefällt werden kann, in Wirksamkeit vom Pepsin aus der Magenschleimhaut des Schweines übertroffen wird, ist kein Beweis, daß das Pepsin des Hundes anderer Art ist als das Pepsin des Schweines, kann aber vielleicht einer nicht vollständigen Fällung des «Antipepsins» bei der Dialyse zugeschrieben werden.

Für diese Annahme spricht die Beobachtung, daß es möglich war, aus dem Magensaft, mittels Ammonsulfat, Pepsin zu bereiten, welches beinahe ebenso kräftig wirkte als das

Pepsin des Schweines, wenn nämlich, durch Vergrößerung der erst gefällten Pepsinmenge, die Möglichkeit erhöht wurde einer mehr vollständigen Fällung der hemmenden Stoffe.

Dazu wurde der Magensaft nicht, wie gewöhnlich, sofort dialysiert, sondern nach Abstumpfung der saueren Reaktion mittels Ammoniak, halb mit Ammonsulfat gesättigt, den Niederschlag von Salz befreit, in möglichst wenig 0,2%iger HCl bei 38° C. gelöst und dann wurde aus dieser Lösung das Pepsin wieder durch Dialyse gefällt. Die Konzentration der Pepsinlösung war durch diese Behandlung beträchtlich höher geworden als diejenige des Magensaftes und infolgedessen wurde bei der Dialyse viel mehr Pepsin gefällt als aus dem unveränderten Magensaft erhalten wurde. Was jetzt noch im Dialysator gelöst blieb, wurde, in gewohnter Weise, mit Ammonsulfat gefällt, in HCl gelöst und mittels Dialyse wieder gefällt.

Zweimal wurde die verdauende Kraft des letztgenannten Niederschlages bestimmt. Von jedem der beiden Präparate wurde 0,5 mg in 10 ccm 0,2%igem HCl mit zwei Eiweißröhrchen 24 Stunden digeriert. In einem Fall betrug die Verdauung 5,0 mm, im anderen 4,8 mm, während beim Schweinspepsin die Verdauung, bei demselben Pepsingehalt und derselben Digestionszeit, nur wenig mehr als 5 mm betrug.

Man hat keine Ursache das Vorhandensein von hemmenden Stoffen auch im Schweinspepsin anzunehmen, weil ja, wie gesagt, die in verschiedenen Weisen davon hergestellten Präparate keine nachweisbaren Unterschiede in Wirksamkeit zeigen. In Betracht nehmend, daß dieses Pepsin erhalten wird, nachdem die Magenschleimhaut 4 oder 5 Tage lang mit Salzsäure digeriert ist, liegt es auf der Hand, zu denken, daß solche Stoffe, wenn sie auch in der Magenschleimhaut vorkommen, durch diese Behandlung zerstört worden sind. Ich habe deshalb untersucht, ob sie vielleicht auch aus dem Magensaft des Hundes durch Digestion bei Körpertemperatur, vor der Dialyse, entfernt werden können. Das Pepsin aber verdaut, wenn es, wie im reinen Magensaft, nicht genügend von Eiweißstoffen oder Albumosen geschützt wird, sich selbst.¹⁾

¹⁾ Pekelharing, Arch. d. Sc. biol., T. XI, p. 37.

Aus Magensaft wurde, nach 24 stündiger Digestion bei 38° C., nur sehr wenig Pepsin bei der Dialyse gefällt, welches keine kräftiger verdauende Kraft besaß als gewöhnlich bei Pepsin I gefunden wurde. Auch wenn ich dem Magensaft erst Fibrin zusetzte und es dann 4 Tage lang digerierte, wurde aber das daraus, nach Filtration, mittels Dialyse gefällte Pepsin nicht oder kaum kräftiger als gewöhnlich gefunden.

Auch das Pepsin des Hundes behält, wenn es trocken und gegen Licht geschützt aufbewahrt wird, seine Wirksamkeit längere Zeit.

Drei Präparate von Pepsin des Hundes, I, II und III, (diese Zahlen haben dieselbe Bedeutung als in den oben beschriebenen Versuchen), wurden nach Mett und nach Grützner untersucht. Jedesmal wurden je zwei Eiweißröhrchen 24 Stunden digeriert mit 0,4 mg Pepsin in 10 ccm 0,2%iger HCl, während für die Grütznersche Methode jedesmal an 100 mg Karminfibrin mit 8 ccm 0,1%iger HCl, nach 10 Minuten Stehen, 2 ccm Pepsinlösung in 0,2%iger HCl zugefügt wurde, und zwar so, daß auch hier jedes Röhrchen 0,4 mg Pepsin enthielt. Die Digestion wurde nach 5 Minuten durch Filtrieren über Glaswolle, unterbrochen. Die Bestimmung wurde, während das Pepsin im Exsikkator im Dunkeln aufbewahrt wurde, nach 35 und noch einmal nach 63 Tagen wiederholt. Der Befund war:

	Mett	I	II	III	Grützner	I	II	III
frisch		2,1 mm	1,66 mm	3,1 mm		1	0,93 mm	1,3 mm
nach 35 T.		2,22	1,92	3,1		1	0,93	1,62
„ 63 „		2,3	2,04	3,28		1	1,04	1,76

Von einer Abnahme der Wirksamkeit kann sicher nicht die Rede sein. Die Unterschiede sind so klein, daß ich es nicht wage, daraus auf ein Verschwinden von hemmenden Stoffen zu schließen.

Ich komme also zu dem Schluß, daß, wenn man den Pepsingehalt von Magensaft zu bestimmen wünscht, man mit der Mettschen sowohl als mit Grütznerschen Methode mit praktisch genügender Genauigkeit diesen Zweck erreichen kann und daß, als ein zum Vergleich brauchbarer Maßstab, das in der beschriebenen Weise bereitete und aufbewahrte Pepsin des Schweines verwendet werden kann.

In der Regel genügt die sehr wenig Zeit in Anspruch nehmende und nur sehr einfache Hilfsmittel erfordernde Mettsche Methode. Ist aber die Wirksamkeit des Magensaftes sehr schwach, oder wünscht man in sehr kurzer Zeit das Resultat zu wissen, dann ist die Grütznersche Methode vorzuziehen.

Aus dem Magensaft des Hundes kann zwar das Pepsin reiner als aus der Magenschleimhaut erhalten werden, es ist aber, wie aus dem Mitgeteilten hervorgeht, nicht leicht, davon einen genügenden Vorrat zu bereiten. Die Magenschleimhaut des Schweines dagegen kann wohl immer leicht erhalten werden und es ist möglich, daraus ohne viel Mühe Pepsin zu bereiten, welches, in richtiger Weise aufbewahrt, längere Zeit als Standardpräparat brauchbar bleibt.
