

Weitere Beobachtungen über Chymosin und Pepsin des Kalbsmagensafts.

Von

A. Rakoczy.

(Aus dem physiologisch-chemischen Laboratorium der kais. St. Wladimir-Universität in Kiew.)

(Der Redaktion zugegangen am 8. Juli 1911.)

Die Untersuchung von Kalbs- und Rindermageninfusionen hat mich zu dem Schlusse geführt, daß sich die milchkoagulierende Fähigkeit des Rindermagens durch die alleinige Wirkung des Pepsins (Parachymosins) erklären läßt, während man gezwungen ist, für den Kalbsmagensaft das Vorhandensein eines anderen, speziell milchkoagulierenden Ferments — des Chymosins — neben dem Pepsin anzunehmen.¹⁾ Mit zunehmendem Alter verschwindet das Chymosin. Dieses Verschwinden am natürlichen Magensaft eines und desselben Versuchstieres nachzuweisen, ist mit gewissen Schwierigkeiten verbunden: die Methoden zur quantitativen Bestimmung der Fermente geben keine absoluten Zahlen; andererseits führt die Vergleichung von in großen Zeitintervallen gesammelten Säften zu unzuverlässigen Resultaten, da der Saft bei langewährnder Aufbewahrung seine Eigenschaften ändert.²⁾ Daher vermochte ich nach mehr als einmonatiger Beobachtung eines Kalbes mit kleinem Pawlowschem Magen nicht, eine Verminderung der milchkoagulierenden Fähigkeit des Magensafts mit Bestimmtheit festzustellen und in Zahlen auszudrücken.³⁾

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 68, S. 421.

²⁾ Soweit ich bemerken konnte, erfolgen bei langewährendem Aufbewahren an kaltem Orte im künstlichen oder natürlichen Kalbsmagensaft dieselben Veränderungen, wie beim 2—3tägigen Digerieren bei 40°: die milchkoagulierende Kraft fällt viel schneller als die proteolytische, d. h. es kommt zur Zerstörung des Chymosins.

³⁾ l. c. S. 455.

Unlängst hatte ich Gelegenheit, gleichzeitig die aus den kleinen Mägen von 2 Kälbern verschiedenen Alters stammenden Säfte zu untersuchen. Beide waren von Herrn Privatdozent J. Belgowski operiert worden, und zwar das erste (A) im Alter von 3 Wochen Mitte Oktober 1910. Dasselbe war zur Zeit der Beobachtung (März 1911) gegen 5 Monate alt; es nährte sich in den ersten Monaten von Milch, sodann von gemischtem Futter und in den letzten 2 Wochen ausschließlich von Heu. Das zweite (B) wurde den 25. I. 1911 geboren, den 15. II. operiert und war zur Zeit der Beobachtung gegen 1½ Monate alt; als Nahrung diente ihm die ganze Zeit über Milch.

Säfte für den Zeitraum 27.—28. II. 1911. Gesamtacidität: A — 68 (= 0,25% HCl), B — 82 (= 0,30% HCl). Durch Zusatz von entsprechenden Mengen Wasser und n_{10} -HCl wurden beide Säfte um das Zweifache verdünnt und auf die gleiche Acidität 50 (= 0,18% HCl) gebracht.¹⁾ Nach einer solchen Verdünnung koagulierte der Saft des älteren Kalbes (A,) Milch in 58", der des Milchkalbes (B,) in 23";²⁾ eine vorher angestellte Probe mit trockenem Carmin-Fibrin hatte gezeigt, daß beide Säfte eine fast gleiche proteolytische Kraft besaßen.

Der präziseren Vergleichung halber wurde zu A, ein gleiches Volumen gekochten B, und zu B, ein gleiches Volumen gekochten A, hinzugesetzt, wodurch Acidität und Menge der festen Bestandteile in beiden Säften ausgeglichen, die Fermentmengen um 4mal verringert werden. Der Vergleich (am folgenden Tage) ergab:

1. A, (+ gek. B,) koag. 118", verd. (Mett 21 Std.) 3,0 mm
 B, (+ „ A,) „ 35", „ „ 21 „ 2,85

2. A, und B, wurden zur Untersuchung des Einflusses von NaOH und CaCl₂ durch Verdünnung mit n_{20} -HCl auf die gleiche milchkoagulierende Kraft gebracht (A,, und B,,):

¹⁾ Da die Acidität des Kalbsmagensaftes 100 (= 0,365% HCl) nicht überstieg, so benutzte ich zur Verdünnung die Formel:

100 ccm Saft + (100 — P) ccm n_{10} -HCl + P ccm Wasser, wo P die in ccm n_{10} -NaOH auf 100 ccm Saft ausgedrückte Acidität bedeutet.

²⁾ 1 ccm saurer (n_{20}) Saft auf 10 ccm frische Milch bei 40° C.

Milch	Saft- menge	Koagulationszeiten	
		A,,	B,,
5 ccm	0,5	70"	65"
5 » + 0,25 ccm $n_{/10}$ -NaOH	0,5	330"	210"
5 » + 0,5 » 1% CaCl_2 .	0,5	21"	23"
Dieselben Säfte noch ca. 4mal mit $n_{/10}$ -HCl verdünnt			
5 ccm	0,5	5'	5'
5 » + 1 ccm 1% CaCl_2 . .	0,5	42"	51"
Verdaut 27 Std.		2,0 mm	ca. 0,8 mm

Somit koaguliert A bei fast gleicher Verdauungskraft etwas mehr als 3mal so langsam als B und zeigt im Vergleich zum letzteren die Eigenschaften des Parachymosins.

Für die weiteren Versuche wurde A auf reine Milchnahrung gesetzt; folglich war das Futter, auf das hin die zu vergleichenden Säfte abgedondert wurden, das gleiche.

3. 5. III. 1911. Das ältere Kalb (A) nährte sich 2 Tage nur von Milch, während das jüngere (B) die ganze Zeit auf Milchnahrung gesetzt war. Gesamtacidität: A — 70, B — 95. Beide Säfte auf die gleiche Acidität gebracht. (A, und B,). A, koagulierte 85", B, — 20".

A, (+ gek. B,) koag. 165—175", verd. (20 Std.) 4,0 mm

B, (+ » A,) » 38", » 20 » 3,8 .

B, durch Verdünnung mit n_{20} -HCl auf die gleiche koagulierende Kraft mit A, gebracht (B,,):

A, koag. 85", verd. (20 Std.) 4,5 mm

B,, » 80", » 20 » 2,5

A, (+ gek. B,,) koag. 170", verd. (20 Std.) 3,75 mm

B,, (+ » A,) » 140", » 20 » 1,5

4. 6. III. 1911. A nährte sich 3 Tage von Milch, B auf Milchnahrung. Gesamtacidität: A — 40, B — 60. Probe mit den unverdünnten Säften (1 ccm auf 10 ccm Milch):

A koag. 60", verd. (24 Std.) 5,0 mm

B » ca. 5", » 24 » 5,0 .

Beide um das Doppelte verdünnt und auf dieselbe Acidität 50 gebracht (A, und B,).

A, koag.	82"	, verd.	(24 Std.)	5,0 mm
B,	15"	,	24	4,8

Ein annähernd gleiches Resultat ergab die Bestimmung der Verdauungskraft nach dem Verfahren von Jacoby-Solms und der Koagulationskraft — nach dem Verfahren von Morgenroth-Fuld: die verdauende Kraft der Säfte erwies sich als gleich (10 Pepsineinheiten), die koagulierende als verschieden: A brachte Milch zur Gerinnung (2 Stunden bei 4° C., sodann 5 Min. bei 40°) bei 20facher, B — bei 80–160facher Verdünnung.

Weitere Beobachtungen an diesen Kälbern konnte ich nicht anstellen, da das eine von ihnen unerwartet durch einen Zufall zugrunde ging. Die angeführten Versuche sind zu wenig zahlreich, als daß man auf Grund derselben zu allgemeinen Schlüssen bezüglich Zeit und Modus des Verschwindens des Chymosins aus dem Kalbsmagen gelangen könnte, sie zeigen aber jedenfalls, daß schon bei einem Altersunterschied von einigen Monaten eine durchaus bestimmte Veränderung der Eigenschaften des Saftes zu bemerken ist. Als Beweis dafür, daß hier gerade eine Veränderung des Saftes und keine individuellen Schwankungen statthaben, kann unter anderem folgende Beobachtung dienen: der Saft des älteren Kalbes (A), der zufällig bald nach der Operation untersucht wurde (22. XI. 1910, d. h. als das Kalb 2 Monate alt war), koagulierte bei doppelter Verdünnung in 18–22", verdaute (in 18 Stunden) 3,0 mm. Bei Zusammenstellung dieser Daten mit Versuch 3 erhalten wir:

A, (21. XI. 1910)	koag.	18–22"	, verd.	(18 Std.)	3,0 mm
B (6. III. 1911)		15"	,	24	4,8
A (6. III. 1911)		82"	,	24	5,0

Das Kalb A sonderte folglich im Alter von 2 Monaten einen Saft ab, der seinen Eigenschaften nach B ähnlich war und sich bedeutend von dem Saft unterschied, der 3 Monate später von demselben Kalbe A abgesondert wurde.¹⁾

Die Säfte A und B zeigten, was die Koagulationskraft

¹⁾ Der Saft desselben Kalbes B nach 3 Monaten (20. VI. 1911) unter gleichen Bedingungen koag. in 65", verd. (24 Stunden) 5 mm; er erwies sich also als bereits A ähnlich.

und das Verhalten zu NaOH und CaCl₂ anbelangt, einen viel geringeren Unterschied als der bei Vergleichung von Mageninfusionen von Kalb und Rind zur Beobachtung gelangende. Daher muß angenommen werden, daß auch in dem Saft A noch eine erhebliche Chymosinmenge enthalten ist. Zur Bestätigung dieser Voraussetzung stellte ich Versuche mit der Trennung des Chymosins mittels der Dialyse an. Der erste Versuch der Trennung der Fermente mißlang. Nach der Dialyse im Laufe von 24 + 24 Stunden gegen 20 + 20 Volumen Wasser wurden beide Säfte nur leicht getrübt, gaben aber fast gar keinen Niederschlag. Soweit ich zu bemerken vermochte, sind solche Mißerfolge am häufigsten durch einen zu geringen Gehalt der zu dialysierenden Säfte an schleimigen Substanzen bedingt. Um diesen Gehalt in den Säften zu vergrößern, fügte ich zu jedem derselben ein gleiches Volumen gekochte Kalbsmageninfusion hinzu, worauf ich den Versuch wiederholte;¹⁾ nach der Dialyse trübten sich die Säfte stark und schieden nach der Abkühlung einen typischen schleimigen Niederschlag ab. Die Filtrate wurden bis auf ⁿ/₂₀-HCl angesäuert, ein Teil derselben gekocht und in ihnen nach Abkühlung die entsprechenden Niederschläge gelöst; sodann wurden die Niederschlagslösungen durch Verdünnung mit ⁿ/₂₀-HCl auf die gleiche Koagulationskraft mit dem Filtrat gebracht; die Resultate der Vergleichung sind in der untenstehenden Tabelle zusammengestellt (Säfte vom 6. III. 1911):

	A (älteres Kalb)			B (jüngeres Kalb)		
	Koag.	Verdaut		Koag.	Verdaut	
		Eiweiß in 20 St.	Serum in 10 St.		Eiweiß in 20 St.	Serum in 10 St.
F (Filtrat)	15'	ca. 0,1 mm	1,0 mm	6'	0,0 mm	ca. 0,5 mm
N (Niederschlags- lösung) . .	16'	1,1	2,6	6'	1,2	3,0

¹⁾ Für diesen wiederholten Versuch benutzte ich die Reste der am 6. III. gesammelten Säfte, die einige Tage im Zimmer gestanden hatten und beträchtlich schwächer geworden waren.

Die Vergleichung von F mit N beweist, daß nicht nur der Saft B, sondern auch der Saft A noch deutlich nachweisbare Chymosinmengen enthält.

Diese Versuche führen zu dem Schlusse, daß im Laufe der ersten 5 Monate des Lebens des Kalbes bereits eine merkliche Verminderung des Gehalts seines Magensafts an Chymosin erfolgt, während die Pepsinmenge offenbar unverändert bleibt.

In Anbetracht der letzten Arbeit von Sawitsch,¹⁾ in der er darauf hinweist, daß die die Eigenschaften des Parachymosins aufweisenden Säfte des Hundes sich der HCl gegenüber anders verhalten als die Säfte von Wiederkäuern (Kalb und Ziegenbock), versuchte ich die Verdauungskraft der Säfte vom 6. III. 1911 bei verschiedener Acidität zu vergleichen.

Die am 6. III. 1911 gesammelten Säfte wurden auf die Acidität 50 gebracht, sodann zu jedem von ihnen ein gleiches Volumen des gekochten anderen hinzugesetzt, und diese Gemische von neuem mit HCl-Lösungen von verschiedener Stärke 4 mal verdünnt. Folglich wurden die zu vergleichenden Säfte im ganzen 8 mal verdünnt. Die Salzmengen und Mengen der übrigen Beimengungen waren gleich, die Acidität eine verschiedene.

Acidität	A (älteres Kalb)		B (jüngeres Kalb)	
	Eiweiß 20 Stunden	Serum 20 Stunden	Eiweiß 20 Stunden	Serum 20 Stunden
$n_{/80}$ (= 0,045)	2,7	4,1	2,1	4,0
$n_{/40}$ (= 0,09)	3,6	5,1	2,5	4,7
$n_{/20}$ (= 0,18)	3,2	6,0	2,5	5,2
$n_{/15}$ (= 0,27)	2,2	5,5	2,0	5,1
$n_{/10}$ (= 0,365)	ca. 1,0	4,2	ca. 1,0	4,1

Ungeachtet des Unterschiedes in der Koagulationskraft (A — 82", B — 15") bewahren beide Säfte den Parallelismus der Verdauungswirkung bei verschiedener Acidität; folglich liegt kein Grund vor, an der Identität der vom Organismus in verschiedenem Alter abgesonderten Pepsine zu zweifeln.

¹⁾ Diese Zeitschrift. Bd. 68. S. 12.