

Zur Theorie der Eiweissverdauung.

Von

Dr. **W. W. Sawjalow,**

Privatdocent an der Universität Jurjew (Dorpat).

Im Jahre 1895 ging aus dem Laboratorium des Professors Danilewski eine Arbeit Dr. Okunew's hervor. Er berichtet über eine Entdeckung Danilewski's: die Auffindung desjenigen chemischen Agens, das den Uebergang der Peptone in Eiweiss bewirkt. Dieses Agens ist ein zweites Ferment des Magensaftes, ein sog. Chymosin oder Labferment. Schon im Jahre 1886 weist Danilewski in einer seiner einleitenden Vorlesungen¹⁾ darauf hin, dass die Umwandlung der Peptone unter Einfluss eines Ferments verwirklicht wird; die Natur dieses Fermentes erklärt er jedoch nicht näher. Die einzige bisher bekannte Eigenschaft dieses Fermentes war, Casein und einige andere Eiweisskörper zu coaguliren. Inzwischen haben die Untersuchungen Hammarsten's bewiesen, dass das Labferment nicht nur im Magen von Säugethieren, sondern auch von Fischen, Vögeln und Amphibien angetroffen wird, und zwar bei allen von Hammarsten untersuchten Thieren als fertiges Chymosin oder sein Zymogen in der Schleimhaut des Magens. Die räthselhafte Gegenwart des Casein coagulirenden Fermentes in den Verdauungsorganen solcher Thiere, die während ihres ganzen Lebens keinen Tropfen Milch zu sich nehmen, veranlasste Neumeister, die Vermuthung auszusprechen, dass das Chymosin nicht nur auf Casein, sondern auch auf andere Nucleoalbumine wirke. That- sächlich ist die physiologische Bedeutung der Gerinnung der Milch im Magen lang nicht so klar, wie sie auf den ersten Blick erscheinen mag.

Neumeister²⁾ nimmt an, dass die Gerinnung der Milch der Aufsaugung des unveränderten Caseins hinderlich ist, welches, wie

1) Данилевскій, Очеркъ органоластическихъ силъ организмвъ. Харьковъ 1886. (Danilewski, Umriss organoplastischer Kräfte des Organismus. Charkow 1886; russisch.)

2) Neumeister, Zeitschr. für Biologie Bd. 27.

E. Pflüger, Archiv für Physiologie. Bd. 85.

bekannt, nicht die Fähigkeit hat, in den Gefäßen des Thieres zu circuliren, und vollständig durch die Nieren abgeschieden wird.

Wir wissen, dass auch Eieralbumin, in's Blut gebracht, sich mit dem Harn abscheidet. Während es im Magen nicht, wie das Casein, in einen unlöslichen Zustand übergeht, entzieht es sich dadurch nicht weniger der Einwirkung proteolytischer Agentien.

Jedenfalls erklärt die Entdeckung Danilewski's die Gegenwart des Chymosins im Magen viel befriedigender als alle Muthmassungen hinsichtlich des Caseins und der Nucleoproteide.

Dr. Okunew beschreibt den Process der Umwandlung des Peptons in Eiweiss unter Einfluss des Labfermentes folgendermaassen¹⁾:

„Dem äusseren Anschein nach stellt diese Reaction eine Niederschlagsreaction dar, d. h. die helle, vollständig klare Lösung, mit einem wässerigen Auszuge des Labmagens in etwas anderem Verhältniss, als dieses zur Gerinnung der Milch gebraucht wurde, gemischt und bis 40° erwärmt, beginnt sich bei dieser Temperatur langsam zu trüben und gibt nach einiger Zeit Flöckchen, die sich in ganzen Wolken ansammeln und sich allmählig am Boden des Reagenzglases absetzen. Schon nach 24 Stunden hat sich der ganze flockige Niederschlag so weit verdichtet, dass man das Reagenzglas umstülpen kann, ohne einen Tropfen der Masse zu verlieren, was auch, wie bekannt, von der Verdichtung des nicht in Reaction gegangenen Peptons, in Folge Verdampfens von Wasser, abhängt.“²⁾

Der Autor untersuchte weiter vergleichsweise den Einfluss einiger chemischer und physikalischer Agentien auf den Process der Regeneration des Eiweisses und auf die fermentative Coagulation der Milch.

1) Роль сычужнаго фермента при ассимиляціонныхъ процессахъ организма. Дисс. С. П.-Б. 1895. (Rolle des Labfermentes bei den Assimilationsprocessen des Organismus. Diss. St. Petersburg 1895; russisch.)

2) Weiter unten wird darauf hingewiesen werden, dass auch in solchen Fällen eine Gelatinirung der ganzen Flüssigkeit beobachtet wurde, wo einer Verdampfung des Wassers durch Ausföhrung der Operation in Gläsern mit eingeschliffenen Glasstöpseln nach Möglichkeit vorgebeugt wurde. Auch hier floss die gebildete Masse nicht aus dem umgestülpten Reagenzglas. Die Gelatinirung der Flüssigkeit wird nicht durch die Verdichtung der Peptonlösung durch Verdampfen, sondern durch die Eigenschaften des Productes der Fermentation begründet.

Den vollen Parallelismus, welcher bei der einen und bei der anderen Fermentation beobachtet wurde, findet der Autor als genügenden Beweis dafür, dass die Regeneration des Eiweisses aus Peptonen auf Rechnung des Labfermentes vor sich geht. Streng genommen ist jedoch ein solcher Beweis wenig überzeugend, zumal alle Fermente, abgesehen von der Verschiedenheit ihrer Natur und specifischen Wirkung, sich annähernd in gleicher Weise zu den Reagentien, welche den Fermentationsprocess beeinflussen und gegen Wärme verhalten. Nach dem bisher Gesagten kann diese Frage nicht eher als gelöst betrachtet werden, als bis durch Versuche bewiesen wird, dass als alleinige Ursache der uns interessirenden Erscheinung das Labferment dasteht.

Weiter beschreibt der Autor die Producte der Fermentation und qualificirt sie als geronnene, in verdünnten Lösungen von Alkalihydraten (unter 1 %) unlösliche Eiweisskörper. — In 1 % alkalischer Lösung lösen sich die beschriebenen Körper unter Bildung von Albuminaten auf. Indem der Autor weiter eingehend die Eigenschaften dieser „geronnenen“ Eiweisskörper beschreibt, verfällt er in schwer erklärliche Widersprüche. Einige Zeilen weiter schreibt er: „Im Allgemeinen herrscht in ihnen die Gruppe der Albumine vor.“ Auf welche Weise der Autor in den „coagulirten“, durch Auflösen in Albuminate umgewandelten Eiweissstoffen den Charakter der Albumine entdeckt hat, ist aus der Arbeit nicht ersichtlich. Uebrigens hat man unter den bekannten Methoden keine einigermaassen brauchbare zur Lösung dieser Frage.

„Aus saurer und alkalischer Lösung werden sie bei der Neutralisation ausgefällt;“ dieses stimmt vollständig mit den Eigenschaften der Albuminate überein. Aber der folgende Punkt widerspricht wieder der auf derselben Seite gegebenen Erklärung der Producte der Fermentation: „Die neutralisirte alkalische Lösung gibt beim Kochen und schwachen Ansäuern mit Essigsäure coagulirte Flocken.“ Alkalialbuminat coagulirt bei Gegenwart einer sehr geringen Menge Soda, aber nicht schon beim Kochen, sondern erst beim Erhitzen in zugeschmolzenen Glasröhren bis 120°. Die weiteren Eigenschaften der Producte der Fermentation beschreibt der Autor mit folgenden Worten: „Die wässerigen Lösungen geben mit Salpetersäure die Reaction auf Albumose. Heisser Spirit von 50—60° löst einen Theil der Eiweissstoffe ($\frac{1}{3}$); diese fallen beim Erkalten der Flüssigkeit wieder aus. Der in Wasser lösliche Theil der Eiweissstoffe

coagulirt beim Erwärmen in mit Essigsäure angesäuerter Lösung. Endlich bewegt sich die Menge des in den Eiweissstoffen enthaltenen Phosphorsäureanhydrids bei den verschiedenen Objecten in engen Grenzen; im Durchschnitt beträgt sie 0,4%, was einem Gehalt von 0,11% P entspricht.“

In einer am 7. November 1898 publicirten Arbeit¹⁾ ändert der Autor in einigen Stücken seine früheren Behauptungen, indem er den aus den Peptonen sich regenerirenden Eiweissstoffen Löslichkeit in sehr schwacher Natronlauge zuschreibt und sie Stoffe sui generis nennt. Zur Unterstützung seiner Behauptung führt er jedoch keinen einzigen Beweis an. Wir haben uns absichtlich jetzt eingehender mit der Arbeit Dr. Okunew's beschäftigt, um ihn nicht bei der Erläuterung unserer eigenen, von der seinigen Beschreibung sehr abweichenden Untersuchungen der Eigenschaften des aus den Peptonen sich regenerirenden Eiweisses citiren zu müssen.

Im Anschluss an seine Arbeit versucht Okunew, die Frage über die chemische Natur des Fermentationsprocesses der Peptone mit Chymosin zu lösen. Die Pepton- und Fermentlösung verdampft er, bringt sie bei 100° bis zum constanten Gewicht und bestimmt den Trockenrückstand. Darauf mischt er bestimmte Mengen der einen und der anderen Lösung, überlässt sie einige Zeit einer Temperatur von 40°, verdampft sie und trocknet sie bei 100° bis zum constanten Gewicht. Das gefundene Gewicht des Trockenrückstandes erwies sich als geringer, als auf Grund des ersten Versuches erwartet werden konnte. Der Unterschied betrug gegen 2% der ganzen Peptonmenge. Daraus kann gefolgert werden, dass der Process der Regeneration des Eiweisses aus Peptonen mit einer Ausscheidung von Constitutionwasser verbunden ist, d. h. dass er seinen chemischen Eigenschaften nach entgegengesetzt dem Process der Peptonisirung ist.

In der Dissertation des Dr. Lawrow²⁾ finden wir einige diese Frage berührende Hinweise. So bestätigt Lawrow auf S. 95 nochmals die Richtigkeit der Behauptung Okunew's von den Eigenschaften der Producte der Fermentation: „Der bei der Einwirkung

1) Okunew, Physiologiste russe Nr. 3—4.

2) Лавровъ, Къ вопросу о химизмѣ пептического и триптического перевариванья бѣлковыхъ тѣлъ. С. П.-Б. 1897. (Lawrow, Zur Frage über den Chemismus der peptischen und tryptischen Verdauung von Eiweisskörpern. Diss. St. Petersburg 1897; russisch.)

des Labfermentes auf Lösungen von Peptonen erhaltene flockige Niederschlag hat die Eigenschaft von coagulirten Eiweisskörpern.“ Weiter untersuchte der Autor die Beziehungen einiger von ihm isolirter Verdauungsproducte zum Labfermente und fasst die Resultate seiner Arbeit in folgenden zwei Thesen zusammen:

1. Die durch Ammoniumsulfat nicht fällbaren Producte der peptischen und tryptischen Verdauung des Fibrins albuminisiren sich nicht durch das Labferment.

2. Das durch Ammoniumsulfat fällbare, durch gelbes Blutlaugensalz + Essigsäure jedoch nicht fällbare und einige farbige Eiweissreactionen nicht gebende Gemisch der Producte der peptischen Verdauung des Fibrins albuminisirt sich nicht durch das Labferment, sondern dehydratirt sich nur; die bei der Behandlung eines Gemisches dieser Lösungen mit Labferment erhaltenen Niederschläge geben nicht die Reaction Adamkewicz's, Liebermann's und Pettenkofer's.

Die Wirkung des Labfermentes auf Pepton, indem sie in chemisch-physiologischem Sinne als Process, umgekehrt dem Process der Peptonisirung, erscheint, offenbart sich in ihren äusseren Anzeichen gerade entgegengesetzt der Erscheinung, die bei der Verdauung der Eiweisskörper beobachtet wird. Der Gegensatz dieser Erscheinungen ist so anschaulich, dass man ihn ganz gut zu Demonstrationen benutzen kann. Man nimmt zwei Reagenzgläser, bringt in das eine einige Flöckchen Fibrin, in das andere bis 10 ccm einer starken, etwa 15 %igen Lösung der Verdauungsproducte des Myosins¹⁾, mit Salzsäure in einer Stärke von 2 ‰ angesäuert, und fügt dem Inhalt des einen sowohl als auch des anderen Reagenzglases künstlichen Magensaft hinzu und stellt sie in den Thermostat. Nach einstündigem Stehen ist der unlösliche Eiweisskörper unter Bildung von Albumosen in Lösung gegangen, und umgekehrt zeigt das andere Gläschen, in dem vorher die klare Lösung der Albumosen und Peptone war, einen starken Niederschlag von unlöslichem Anhydrideiweiss.

In eben dieser Bildung des unlöslichen Niederschlages besteht das sichtbare Merkmal der Fermentation. Die physikalischen Eigenschaften dieses Niederschlages sind, je nach der Herstellungsmethode, verschieden; bisweilen sind es feine, in der Flüssigkeit suspendirte

1) Das Pepton Witte ist für Demonstrationen nicht geeignet, weil bei Gebrauch desselben die Fermentation sehr langsam vor sich geht.

oder am Boden liegende Flöckchen, bisweilen (diese Fälle halten wir für viel charakteristischer) verwandelt sich die ganze Flüssigkeit in eine mehr oder minder durchsichtige, gallertartige, aus dem umgestülpten Reagenzglas nicht herausfließende Masse. Der Niederschlag, möge er nun gallertartig oder flockenförmig sein, ist bei Gegenwart der Flüssigkeit, aus der er gefällt wurde, in schwachen Säuren und Alkalien, in reinem Wasser und Salzlösungen unlöslich. — Nach dem Auswaschen auf dem Filter löst er sich in verdünnten Lösungen von kohlensauren und Aetz-Alkalien; in reinem Wasser ist er jedoch, wie vorher, unlöslich. Diese Eigenschaft des Niederschlages erlaubt ihn als Maassstab für die Energie des Fermentationsprocesses zu benutzen um die Abhängigkeit des letzteren, z. B. von der Concentration der Säure, vom Gehalt der Lösung an Pepton, von der Temperatur u. s. w. zu erforschen. Die Methode, nach der ich gearbeitet, gründet sich auf das allgemein angenommene Princip der Bestimmung des Fermentationsprocesses nach der Menge der Fermentationsproducte. Indem ich den Einfluss der verschiedenen Factoren studirte, habe ich mich bemüht, alle übrigen Bedingungen in einer Reihe von Parallelversuchen gleichmässig einzuhalten, um die Rolle der zu untersuchenden Bedingung desto schärfer hervortreten zu lassen. — Zur Bestimmung habe ich mich, wie schon früher erwähnt, des in Wasser unlöslichen Niederschlages, bedient. Der Niederschlag wurde auf ein gewogenes Filter gebracht und so lange mit Wasser gewaschen, bis das Filtrat die Biuretreaction nicht mehr gab, darauf bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet und gewogen.

Versuch I.

Eine 10%ige Lösung von Witte's Pepton wurde neutralisirt und auf $\frac{1}{5}$ des ursprünglichen Volumens abgedampft, so dass der Gehalt an trockenem Rückstand in der Lösung, wie es durch einen besonderen Versuch ermittelt wurde, sich bis auf 52,9% erhöht hatte.

In Gläschen mit eingeschliffenen Stöpseln¹⁾ wurden je 15 ccm obiger Peptonlösung gebracht. Darauf wurde eine Essigsäure von ungefähr 30% $C_2H_4O_2$ dargestellt. 5 ccm dieser Säure erforderten zu ihrer Sättigung 23,9 ccm Normal-ätzkalilösung, woraus sich der Gehalt an Säure zu 28,68% ergibt.

1) Zu allen unten angeführten Versuchen benutzten wir, um das Verdampfen des Wassers zu verhindern, Gläschen mit eingeschliffenen Stöpseln.

Aus dieser Säure wurden folgende Mischungen dargestellt:

	ccm Wasser	ccm Säure		$C_2H_4O_2$
I	11	+ 1	die Mischung enthält	2,39 %
II	9	+ 3	" " "	7,17 %
III	8	+ 4	" " "	9,56 %
IV	6	+ 6	" " "	14,34 %
V	4	+ 8	" " "	19,12 %

Zu 5 ccm der Peptonlösung wurden hinzugefügt:

dem I. Gläschen 1 ccm der Mischung I		und 0,5 ccm dänischer Labessenz ¹⁾	
" II.	" 1 " " "	" II	" 0,5 " " "
" III.	" 1 " " "	" III	" 0,5 " " "
" IV.	" 1 " " "	" IV	" 0,5 " " "
" V.	" 1 " " "	" V	" 0,5 " " "
" VI.	" 1 " d. unverd. Säure v. 28,68 %	"	" 0,5 " " "

Alle sechs Portionen wurden auf 20 Stunden bei 35° in den Thermostat gestellt. Nach Verlauf dieser Zeit wurde der Inhalt der Gläschen auf Filter gebracht und so lang gewaschen, bis das Filtrat die Biuretreaction nicht mehr gab, und bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet und gewogen.

Nr.	$C_2H_4O_2$ %	Quantum des regenerirten Peptons g	Quantum des regenerirten Peptons %	Physikalische Eigen- schaften
I	0,37	0,0632	2,35	Opalisirende Gallerte
II	1,11	0,1275	4,82	Gallerte, stärker opalisirend
III	1,48	0,1440	5,44	Undurchsichtige Gallerte
IV	2,22	0,1534	5,79	" " "
V	2,96	0,1628	6,15	" " 2)
VI	4,44	0,1715	6,48	" " 2).

1) Die dänische Labessenz bezogen wir aus der Sander'schen Handlung in Jurjew. Die Flüssigkeit enthielt sehr kleine Mengen von Pepsin und wirkte sehr energisch auf Milch. 1 ccm auf das 200fache verdünnter Essenz coagulirte 10 ccm Milch im Laufe von 1—2 Minuten.

Die Zusammensetzung der Essenz ist folgende:

Wasser	74,252 %
Trockenrückstand	25,748 %
Organische Stoffe	6,000 %
Coagulirendes Eiweiss	0,760 %
Unlösliche Salze	0,538 %
Lösliche Salze	19,210 %
Chlornatrium	18,520 %

2) Beim Umstülpen des Glases fliesst die Gallerte nicht heraus.

Versuch II.

Neutrale Witte'sche Peptonlösung, 27,779% Trockenrückstand enthaltend, wurde in sieben Portionen je zu 10 ccm geteilt und zu

	I hinzugefügt 3 ccm Wasser, — ccm Normal-HCl und 1,3 ccm Labessenz					
II	2,5	„	0,5	„	„	1,3
III	2,0	„	1,0	„	„	1,3
IV	1,5	„	1,5	„	„	1,3
V	1,0	„	2,0	„	„	1,3
VI	0,5	„	2,5	„	„	1,3
VII	—	„	3,0	„	„	1,3

Alle sieben Portionen wurden in Gläschen mit eingeschliffenen Stöpseln bei 35° in den Thermostat gestellt. Nach 18 Stunden wurde der Niederschlag abfiltrirt, mit Wasser ausgewaschen und bei 110° bis zum constanten Gewicht getrocknet und gewogen.

Nr.	HCl %	Quantum des regenerirten Peptons g	Quantum des regenerirten Peptons %	Physikalische Eigenschaften
I	0,00	0,1020	3,67	Opalisirende Flüssigkeit
II	0,13	0,2280	8,02	Bewegliche Gallerte
III	0,26	0,3200	11,52	„
IV	0,39	0,3460	12,45	„
V	0,52	0,3686	13,23	„
VI	0,65	0,3916	14,09	Unbewegliche Gallerte
VII	0,78	0,2863	10,36	„

Versuch III.

Neutrale Witte'sche Peptonlösung, enthaltend 22% Trockenrückstand, wurde in sechs Portionen zu je 10 ccm geteilt. Jeder Portion wurde 1 ccm Labessenz zugesetzt und ausserdem der

I. Portion — ccm Normal-HCl und 5,0 ccm Wasser					
II.	„	1,0	„	„	4,0
III.	„	2,0	„	„	3,0
IV.	„	3,0	„	„	2,0
V.	„	4,0	„	„	1,0
VI.	„	5,0	„	„	—

Nach 18stündigem Stehen im Thermostat wurde der Niederschlag abfiltrirt, mit Wasser ausgewaschen, bei 105° getrocknet und gewogen.

Nr.	HCl %	Quantität des regenerirten Peptons g	Quantität des regenerirten Peptons %	Physikalische Eigen- schaften
I	0,00	0,0480	2,28	Unbedeutender Niederschlag
II	0,22	0,1920	8,72	Umfangreicher Niederschlag
III	0,45	0,2100	9,54	Ebenso, leicht gallertartig
IV	0,68	0,1080	4,90	Niederschlag
V	0,91	0,0000	0,00	Kaum opalisirende Flüssigkeit
VI	1,08	0,0000	0,00	Durchsichtige Flüssigkeit

Versuch IV.

Die Bedingungen sind dieselben wie im vorhergehenden Fall.

Nr.	HCl %	Quantität des regenerirten Peptons g	Quantität des regenerirten Peptons %	Physikalische Eigen- schaften
I	0,00	0,0660	3,0	Unbedeutender Niederschlag
II	0,22	0,1990	9,04	Umfangreicher Niederschlag
III	0,45	0,2120	9,59	Ebenso, leicht gallertartig
IV	0,68	0,1440	6,54	Niederschlag
V	0,91	0,0000	0,00	} Durchsichtige Flüssigkeit
VI	1,08	0,0000	0,00	

Versuch V.

Die Bedingungen sind dieselben wie in den zwei vorhergehenden Versuchen.

Nr.	HCl %	Quantität des regenerirten Peptons g	Quantität des regenerirten Peptons %	Physikalische Eigen- schaften
I	0,00	0,0420	1,90	Niederschlag
II	0,22	0,1940	8,82	"
III	0,45	0,2090	9,50	"
IV	0,68	0,1300	5,91	"
V	0,91	0,0000	0,00	} Durchsichtige Flüssigkeit
VI	1,08	0,0000	0,00	

Wie aus obigen Versuchen zu ersehen, ist der Gehalt an Säure, bei welchem der Regenerationsprocess des Eiweisses aus dem Pepton am günstigsten vor sich geht, = 4,56—6,39 ‰, im Mittel = 5,48 ‰.

Bei höherem oder geringerem (als die angeführten Zahlen) Salzsäuregehalt verläuft die Fermentation weniger energisch. Sogar bei neutraler Reaction ist das Chymosin fähig, das Eiweiss aus den Peptonen zu regeneriren, allerdings in sehr geringem Grade. So war im Versuch II die Quantität des Eiweisses bei neutraler Reaction 18 Stunden nach Beginn des Versuches nur 3,67 ‰ der zum Versuche angewandten Peptonmenge. In den Versuchen III—V war sie = 1,91—3,00 ‰. Bei basischer Reaction geht der Process gar nicht vor sich, wenn der Gehalt der Base (Na_2CO_3) 0,5 ‰ erreicht; bei schwächerer Lösung von Na_2CO_3 , z. B. 0,25 ‰, vermag das Ferment noch Eiweiss zu bilden. So gab Pepton aus Eialbumin nach vier Stunden einen ziemlich reichlichen Niederschlag, obgleich die Flüssigkeit 0,25 ‰ Na_2CO_3 enthielt.

Uebrigens ist es uns, wenn als Versuchsmaterial das Witte'sche Pepton angewandt wurde, nicht ein einziges Mal gelungen, auch nur eine Spur von Eiweiss aus basischer Lösung zu erhalten, wenn auch 0,25 ‰ Na_2CO_3 -Gehalt nicht überschritten wurde. Dieser Unterschied ist auf folgende Weise zu erklären.

Die Regeneration des Witte'schen Peptons vollzieht sich überhaupt viel langsamer als diejenige der unmittelbar vor dem Versuche bereiteten Peptone. Manchmal vergehen vier bis fünf Stunden, ehe das Witte'sche Pepton einen bemerkbaren Niederschlag mit dem Labferment gibt. Aus Langley's Versuchen ist es bekannt, wie unbeständig Fermente in basischer Lösung sind, besonders dann, wenn auch noch Erwärmung mitwirkt. Man kann annehmen, dass bei den Versuchen mit Witte'schem Pepton das Chymosin zerstört wird, ehe die Reaction bis zur Bildung eines Niederschlages fortschreitet. — Das Resultat wird augenscheinlich das Nichtgelingen des Versuches sein. Bei Erhöhung des Procentsatzes der Salzsäure fällt die Quantität des Fermentniederschlages, und sobald die Salzsäure in der Lösung 0,91 ‰ erreicht, hört die Fermentation vollständig auf, — die Flüssigkeit bleibt nach 18stündigem Stehen im Thermostat bei 40 ° vollkommen klar und lässt auf dem Filter keine Spuren Niederschlag zurück (siehe Versuche III—V). Ganz anders erscheint der Einfluss eines hohen Gehaltes an organischer, z. B. an Essigsäure, wie im Versuch I bewiesen wird. Angefangen mit niedrigem

Procentgehalt der Säure wächst hier die Menge des sich regenerirenden Peptons ununterbrochen fort; anfangs schneller, dann langsamer, aber auch sogar bei 4,41 % Essigsäuregehalt steht die Fermentation nicht nur nicht still, sondern wird im Gegentheil nur energischer. Etwas Aehnliches sehen wir bei einem anderen Magenferment, dem Pepsin. Dieses letztere ist auch bedeutend empfindlicher für anorganische als für organische Säuren; während das Optimum des Salzsäuregehaltes nur 1—2 ‰ beträgt (Brücke), steigt es für organische Säuren bis 2 ‰.

Das beschriebene Verhältniss des Chymosins zur Säure beleuchtet einige Details des Verdauungsprocesses im lebenden Magen. Der für das Pepsin vortheilhafteste Salzsäuregehalt in der Verdauungsflüssigkeit ist = 1—2 ‰, während im Magensaft des Hundes nach den Bestimmungen von Pawlow und Schumowa-Simanowskaja 4,8—5,9 ‰ HCl enthalten sind.

Warwinski fand die Menge der sich bei der künstlichen Pepsinverdauung bei 0,2 % HCl bildenden Peptone = 2,317 g; wenn der HCl-Gehalt 0,5 % erreichte, fiel die Menge der Peptone auf 1,293 g; mit anderen Worten, es verlief die Fermentation im letzteren Falle zwei Mal schwächer als im ersteren. Ein überflüssiger Säuregehalt des Magensaftes erscheint auf diese Weise sehr unzweckmässig in Beziehung der Peptonisation der Eiweissstoffe, und vielleicht war dieses eine der Ursachen, welche einige Physiologen veranlassten, die freie Säure des Magensaftes hauptsächlich als eine Vertheidigungsvorrichtung zu betrachten (vgl. die Meinung Bunge's über die bakterientödtenden Eigenschaften des Magensaftes). Unterdessen aber kann man auf Grundlage unserer Untersuchungen schliessen, dass ein so grosser Säuregehalt am vortheilhaftesten für eine andere im Magen stattfindende Fermentation ist, eben die Verwandlung der Peptone in Eiweiss.

Weiter fragt es sich, wie sich das Chymosin zu den verschiedenen anorganischen und organischen Säuren verhalte, ob die Natur der Säure auf die Energie des Fermentationsprocesses einwirke, oder umgekehrt, ob die blossе Gegenwart einer bekannten Menge von Säure, gleichviel, welcher Zusammensetzung, für die Reaction zwischen Labferment und Pepton genüge.

Zur Lösung dieser Frage bestimmten wir die Menge des Fermentniederschlages bei Gegenwart äquivalenter Mengen verschiedener Säuren. Die Säuren wurden in Normallösungen angewandt; der Gehalt der Säure wurde durch Titiren bestimmt.

Versuch VI.

Neutrale Witte'sche Peptonlösung, 30,552 % organische Stoffe enthaltend, wurde in vier Gläschen zu je 10 ccm vertheilt. Darauf wurden dem Inhalt eines jeden Gläschens 1 ccm dänische Labessenz und 2 ccm Normalsäure zugesetzt; Nr. I erhielt HCl, Nr. II H₂SO₄, Nr. III C₂H₄O₂ und Nr. IV C₃H₆O₃.

Die Mischungen wurden auf 20 Stunden bei 40° in den Thermostat gestellt. — Die weitere Behandlung blieb die gewöhnliche.

Nr.	Säure	Menge des regenerirten Peptons g	Menge des regenerirten Peptons %	Physikalische Eigenschaften
I	Salzsäure	0,3893	12,74	} Gallerte
II	Schwefelsäure	0,4080	13,35	
III	Essigsäure	0,3877	12,69	
IV	Milchsäure	0,4538	14,85	

Versuch VII.

Neutrale Auflösung von Witte's Pepton, 22 % Trockenrückstand enthaltend, wurde in vier Portionen zu je 10 ccm vertheilt. Zu jeder Portion wurden zugesetzt: je 1 ccm Labessenz und 1 ccm normaler Säuren: Salzsäure, Schwefelsäure, Essigsäure und Milchsäure. Alle vier Portionen wurden auf 18 Stunden bei 40° in den Thermostat gestellt.

Nr.	Säure	Menge des regenerirten Peptons g	Menge des regenerirten Peptons %	Physikalische Eigenschaften
I	Salzsäure	0,1410	6,41	} Niederschlag
II	Schwefelsäure	0,1455	6,61	
III	Essigsäure	0,1175	5,34	
IV	Milchsäure	0,1445	6,57	

Versuch VIII.

Bedingungen wie im vorhergehenden.

Nr.	Säure	Menge des regenerirten Peptons g	Menge des regenerirten Peptons %	Physikalische Eigenschaften
I	HCl	0,1325	6,02	} Sich leicht von der Flüssigkeit scheidender Niederschlag
II	H ₂ SO ₄	0,1365	6,20	
III	C ₂ H ₄ O ₂	0,1150	5,23	
IV	C ₃ H ₆ O ₃	0,1370	6,23	

Versuch IX.

Bedingungen wie im Versuche VII.

Nr.	Säure	Menge des regenerirten Peptons g	Menge des regenerirten Peptons %	Physikalische Eigenschaften
I	HCl	0,1385	6,28	} Niederschlag
II	H ₂ SO ₄	0,1385	6,28	
III	C ₂ H ₄ O ₂	0,1165	5,28	
IV	C ₃ H ₆ O ₃	0,1390	6,32	

Versuch X.

Bedingungen wie im Versuche VII.

Nr.	Säure	Menge des regenerirten Peptons g	Menge des regenerirten Peptons %	Physikalische Eigenschaften
I	HCl	0,1390	6,32	} Feinflockiger Niederschlag
II	H ₂ SO ₄	0,1410	6,41	
III	C ₂ H ₄ O ₂	0,1170	5,32	
IV	C ₃ H ₆ O ₃	0,1390	6,32	

Aus den angeführten Versuchen ist zu schliessen, dass die Natur der Säure keinen irgendwie bemerkbaren Einfluss auf die Fermentation ausübt. Als eine sehr wichtige Bedingung für letztere erscheint die Gegenwart der Säure in bestimmter Menge, aber welche Säure auch zum Versuche genommen wird, das Resultat wird nicht verändert. Nicht dasselbe haben wir beim Pepsin. Dieses letztere verdaut die Eiweissstoffe in Gegenwart von HCl bedeutend energischer als in Gegenwart von organischen oder sogar von anderen anorganischen Säuren. Dieses stimmt vollständig mit der Theorie von C. Schmidt überein, nach welcher die Verdauungsfähigkeit nicht das freie Pepsin, sondern eine Verbindung des letzteren mit HCl, die sogenannte Pepsinchlorwasserstoffsäure, besitzt. Was die Reaction zwischen Chymosin und den Peptonen betrifft, so kann hier von einer ähnlichen nicht die Rede sein, da die Reaction selbst in einem basischen Mittel vor sich geht. Hieraus ergibt sich von selbst die Annahme, dass die Säure keine Verbindung mit dem Ferment eingeht und nur als eine der, wenn auch sehr wesentlichen, Nebenbedingungen der Reaction erscheint, in Uebereinstimmung womit

die Natur der Säure kaum einen merklichen Einfluss auf die Fermentation ausüben kann, was auch durch den directen Versuch bestätigt wird.

Als eine andere wesentliche Bedingung der Magenverdauung erscheint die Concentration der Peptonlösung. Es ist bekannt, dass nach Maassgabe der Ansammlung von Producten der Hydrolyse die Verdauungsfähigkeit des Magensaftes bedeutend heruntergeht und bei genügendem Gehalt an Peptonen ganz erlischt. Die Entfernung der Peptone durch Dialyse, die Verdünnung mit Wasser oder die Erhöhung des Säuregehaltes der Flüssigkeit verstärken die Verdauungsfähigkeit der Pepsinchlorwasserstoffsäure von Neuem.

Wodurch auch der schädliche Einfluss der Peptone bedingt wird, ob durch Wasserentziehung (Brücke), ob durch Bindung der freien Säure des Magensaftes (C. Schmidt)¹⁾ oder endlich dadurch, dass die beschriebene Erscheinung einen besonderen Fall des allgemeinen Gesetzes darbietet, wonach alle Fermentationsprocesse sich nach Maassgabe der Ansammlung der Fermentationsproducte abschwächen (G. Tammann), — in jedem Falle ist das Factum der verlangsamten Verdauung nach Maassgabe der Anhäufung der Verdauungsproducte ausser Zweifel gestellt. Daher erscheint die höchst interessante Frage, wie sich die zweite Fermentation des Magens zu dem angeführten Factor verhält. Zur Lösung derselben verglichen wir die Menge des Fermentniederschlages, ausgedrückt in Procenten der zu den Versuchen angewandten Peptonmenge, bei verschiedenem Gehalt der letzteren in der Flüssigkeit. Alle übrigen Bedingungen in den Parallelversuchen waren dieselben wie früher.

Versuch XI.

Neutralisirte Witte'sche Peptonlösung, enthaltend 35,328% Trockenrückstand, wurde in elf Portionen, wie folgt, vertheilt:

I.	Portion	0,5	ccm	Peptonlösung	+	9,5	ccm	Wasser
II.	"	1,0	"	"	+	9,0	"	"
III.	"	2,0	"	"	+	8,0	"	"
IV.	"	3,0	"	"	+	7,0	"	"
V.	"	4,0	"	"	+	6,0	"	"
VI.	"	5,0	"	"	+	5,0	"	"

1) In neuester Zeit haben die Ansichten C. Schmidt's eine indirecte Bestätigung durch die Versuche Cohnheim's erhalten, welcher zeigt, dass die Albumosen und Peptone wirklich im Stande sind, eine bedeutende Menge von Säure zu binden.

VII.	Portion 6,0 ccm	Peptonlösung	+ 4,0 ccm	Wasser
VIII.	" 7,0 "	" "	+ 3,0 "	" "
IX.	" 8,0 "	" "	+ 2,0 "	" "
X.	" 9,0 "	" "	+ 1,0 "	" "
XI.	" 10,0 "	" "	+ 0,0 "	" "

Jeder Portion wurden 2 ccm Normal-HCl und je 1 ccm dänische Labessenz hinzugesetzt, darauf alle Portionen auf 24 Stunden bei 40° in den Thermostat gestellt. Nach Verlauf dieser Zeit wurde der Niederschlag auf gewogene Filter gebracht, gewaschen, getrocknet und gewogen.

Nr.	Menge der Peptone		Menge der regenerirten Peptone		Physikalische Eigenschaften
	g	%	g	%	
I	0,1766	1,36	0,0000	0,00	Kein Niederschlag
II	0,3533	2,72	0,0000	0,00	" "
III	0,7066	5,44	0,0000	0,00	" "
IV	1,0599	8,15	0,0000	0,00	" "
V	1,4132	10,86	0,0349	2,47	Niederschlag
VI	1,7664	13,58	0,1422	8,05	"
VII	2,1197	16,30	0,2195	10,35	Bewegliche Gallerte
VIII	2,4730	19,01	0,2680	10,83	"
IX	2,8263	21,73	0,3715	13,15	Unbewegliche Gallerte
X	3,1796	24,44	0,4165	13,09	" "
XI	3,5328	27,16	0,4788	13,55	" "

Versuch XII.

Neutrale Witte'sche Peptonlösung mit 30,552% Trockengehalt wurde auf folgende Weise in sechs Portionen getheilt:

I.	Portion 2 ccm	Peptonlösung	+ 8 ccm	Wasser
II.	" 4 "	" "	+ 6 "	" "
III.	" 5 "	" "	+ 5 "	" "
IV.	" 6 "	" "	+ 4 "	" "
V.	" 8 "	" "	+ 2 "	" "
VI.	" 10 "	" "	+ — "	" "

Jeder Portion wurden darauf 2 ccm Normal-Salzsäure und 1 ccm dänische Labessenz zugefügt und alle Portionen auf 24 Stunden bei 40° in den Thermostat gestellt. Darauf wurde der Inhalt der Gläser der Filtration unterworfen und auf die gewöhnliche Weise weiter behandelt.

Nr.	Menge der Peptone		Menge der regenerirten Peptone		Physikalische Eigenschaften
	g	%	g	%	
I	0,6110	4,70	0,0015	0,24	Durchsichtige Flüssigkeit
II	1,2221	9,40	0,0290	2,37	Niederschlag
III	1,5276	11,75	0,0994	6,51	"
IV	1,8331	14,10	0,1675	9,14	Bewegliche Gallerte
V	2,4420	18,80	0,2895	11,83	"
VI	3,0552	23,50	0,3905	12,78	Unbewegliche Gallerte

Diese Versuche gaben höchst interessante Resultate. Es zeigt sich, dass die Verwandlung der Peptone in Eiweiss desto erfolgreicher vor sich geht, je höher der Peptongehalt in der Fermentflüssigkeit ist; im Versuch XI erfolgt die Fermentation bei 8,15 % Peptongehalt gar nicht, — die Flüssigkeit bleibt vollständig klar. In dem anderen Versuche wird wohl, auch bei schwacher Concentration der Peptonlösung, die Bildung von Fermentniederschlag beobachtet, aber jedenfalls ist auch hier seine Menge höchst unbedeutend; sie wächst parallel der Erhöhung des Peptongehaltes. Ein solches Verhalten des Chymosins ist sehr merkwürdig dadurch, dass es bis zu einem gewissen Grade gestattet, sich im Verdauungsprocesse, wie er im lebenden Magen vor sich geht, zu orientiren. — Sofort nach der Einführung der Speise in den Magen beginnt die Peptonisirung der Eiweissstoffe und geht anfangs sehr energisch von statten; aber je mehr sich in der Flüssigkeit die Producte der Peptonisirung ansammeln, verlangsamt sich die Verdauung der Eiweissstoffe immer mehr und mehr, um bei genügendem Peptongehalt vollständig zu erlöschen. — Aber parallel mit der Abschwächung der Spaltung der Eiweissmoleküle beginnt der Regenerationsprocess des Eiweisses und schreitet fort, sich immer verstärkend. — Die für die Peptonisation ungünstigen Bedingungen erweisen sich als die allergünstigsten für die Umwandlung der Peptone in Eiweiss und umgekehrt. Auf diese Weise folgt aus den Bedingungen dieser und jener Fermentation ganz von selbst die Aufeinanderfolge dieser beiden Processe in der Zeit. Natürlich schildert das eben gezeichnete Bild nur das annähernde Schema des verwickelten Processes, welcher im Magen verläuft. Dieses Schema würde vollständig der Wirklichkeit entsprechen, wenn sich der Erscheinung nicht die Absorption des Mageninhaltes und die Absonderung des Magensaftes zugesellte, welche lange Zeit nach Einführung der Speise in den Magen fortdauert.

Um die Abhängigkeit der Fermentation von dem Fermentgehalt festzustellen, wurden folgende Versuche angestellt:

Versuch XIII.

30% ige Witte'sche Peptonlösung wurde neutralisirt und in neun Portionen à 6 ccm getheilt. Jeder Portion wurden 2 ccm Normal-Salzsäure zugesetzt und darauf der

I.	Portion	2 ccm	Wasser		
II.	"	1,8 "	"	und	0,2 ccm Labessenz
III.	"	1,6 "	"	"	0,4 " "

IV.	Portion	1,4	ccm	Wasser	und	0,6	ccm	Labessenz
V.	"	1,2	"	"	"	0,8	"	"
VI.	"	1,0	"	"	"	1,0	"	"
VII.	"	0,8	"	"	"	1,2	"	"
VIII.	"	0,6	"	"	"	1,4	"	"
IX.	"	0,4	"	"	"	1,6	"	"

Alle neun Portionen wurden auf 24 Stunden bei 40° in den Thermostat gestellt; nach Ablauf dieser Zeit wurde filtrirt, der Niederschlag auf dem Filter gewaschen, bei 110° getrocknet und gewogen.

Nr.	Menge des Fermentes	Menge des regenerirten Peptons		Physikalische Eigenschaften
		g	%	
I	0	0,0000	0,00	Kein Niederschlag
II	x	0,0010	0,05	
III	2 x	0,1110	6,17	Opalisirende Flüssigkeit
IV	3 x	0,1245	6,91	
V	4 x	0,1420	7,88	Durchsichtige Gallerte. Durch eine Schicht von 5 mm Dicke kann man lesen
VI	5 x	0,1530	8,50	
VII	6 x	0,1643	9,13	Undurchsichtige Gallerte
VIII	7 x	0,1775	9,86	
IX	8 x	0,1760	9,77	

Versuch XIV.

Neutrale 30%ige Witte'sche Peptonlösung wurde in sechs Portionen zu 7 ccm getheilt; zu jeder wurde 1 ccm Normal-Chlorwasserstoffsäure hinzugefügt und darauf zur

I.	Portion	2,0	ccm	Wasser
II.	"	1,6	"	und 0,4 ccm Labessenz
III.	"	1,2	"	" 0,8 " "
IV.	"	0,8	"	" 1,2 " "
V.	"	0,4	"	" 1,6 " "
VI.	"	—	"	" 2,0 " "

Nach 24stündigem Stehen im Thermostat bei 40° wurde der unlösliche Rückstand auf gewöhnliche Weise behandelt.

Nr.	Menge des Fermentes	Menge des regenerirten Peptons		Physikalische Eigenschaften
		g	%	
I	0	0,0000	0,00	Durchsichtige Flüssigkeit
II	2 x	0,1990	9,48	
III	4 x	0,2050	9,76	Opalisirende Gallerte
IV	6 x	0,2250	10,71	
V	8 x	0,2230	10,62	
VI	10 x	0,2212	10,51	

Das Resultat der Versuche kann man auf folgende Weise formuliren. Bei kleinem Fermentgehalt hat ein Zusatz einer neuen Quantität von Labessenz die Vergrößerung der Menge des Fermentationsproductes in ziemlich hohem Grade zur Folge. Weitere Zusätze wirken auf die Fermentation immer schwächer und schwächer, und endlich tritt ein Moment ein, wo die Erhöhung des Fermentgehaltes durchaus keinen Einfluss mehr auf die Fermentation ausübt — die Curve, welche die Abhängigkeit der Menge des Fermentationsniederschlages von dem Gehalt an Ferment ausdrückt, wird parallel der Abscise.

Eine ebensolche Gesetzmässigkeit wird, wie bekannt, auch bei anderen Fermenten beobachtet, — ein Umstand, welcher nochmals die fermentative Natur des Processes beweist.

Es ist auch noch ein anderes Anzeichen der fermentativen Prozesse, die Zunahme der Fermentation bei Erhöhung der Temperatur bis 40%, wie folgender Versuch zeigt, vorhanden.

Versuch XV.

14,86% ige Witte'sche Peptonlösung mit einem Zusatz von 5‰ HCl wurde in sechs Portionen zu 10 ccm getheilt. Jeder Portion wurde 1 ccm Labessenz hinzugefügt. Drei dieser Portionen wurden bei Zimmertemperatur belassen, die anderen drei bei 40° in den Thermostat gestellt. Nach drei Stunden gab die Flüssigkeit im Thermostat einen beträchtlichen Niederschlag, während die Flüssigkeit bei Zimmertemperatur in derselben Zeit vollständig klar blieb. Nach 18 Stunden gaben die Proben bei gewöhnlicher Temperatur folgende Niederschlagsmengen.

Nr.	Menge des regenerirten Peptons		Physikalische Eigenschaften
	g	%	
I	0,0520	3,50	} Flockiger Niederschlag
II	0,0550	3,70	
III	0,0470	3,16	

Nach derselben Zeit gaben die im Thermostat befindlichen Portionen folgende Mengen des Fermentationsproductes:

Nr.	Menge des regenerirten Peptons		Physikalische Eigenschaften
	g	%	
I	0,1550	10,43	} Flockiger Niederschlag
II	0,1510	10,16	
III	0,1510	10,16	

Es ist bekannt, dass die Schleimhaut einiger kaltblütiger Thiere, wie z. B. des Hechtes, ein Pepsin ausscheidet, welches sich in seinem Verhalten zu verschiedenen Temperaturen von dem Pepsin warmblütiger Thiere in etwas unterscheidet. Das Pepsin des Hechtes verdaut Eiweiss schon bei 0° und wirkt nach den Versuchen von Hoppe-Seyler¹⁾ energischer bei 15° als bei 40°. — An diesem merkwürdigen Factum kann man nicht nur den Beweis der verschiedenen Natur der Fermente kalt- und warmblütiger Thiere, sondern auch ein interessantes Beispiel der Anpassungsfähigkeit an die Bedingungen der Umgebung sehen, wo sich der Chemismus der Prozesse, welche sich im Organismus vollziehen, verändert. Es entstand die Frage, ob sich diese selbe Erscheinung am Chymosin kaltblütiger Thiere bestätigen werde, ob auch dieses zweite Ferment des Magensaftes Eigenschaften besitzt, welche vom Chymosin warmblütiger Thiere verschieden und den Temperaturbedingungen des Thieres angepasst sind. Zur Lösung dieser Frage wurde der Magen eines eben getödteten Hechtes (von 5 Pfund Gewicht) ausgeschnitten, geöffnet und mit Wasser ausgewaschen. Die Schleimhaut wurde von den darunterliegenden Schichten abpräparirt, in kleine Stücke zerschnitten und 24 Stunden mit 0,5 % HCl macerirt. Nach dieser Zeit wurden die Schleimhautstücke abfiltrirt und das wasserhelle Filtrat zu den Versuchen verwendet.

Versuch XVI.

30%ige Witte'sche Peptonlösung, enthaltend 0,5% HCl, wurde in vier Gläsern, zu 10 ccm, vertheilt. Zu jedem wurde 1 ccm des obigen Auszuges aus der Schleimhaut des Hechtmagens gefügt; zwei Portionen wurden bei 40° in den Thermostat gestellt, zwei bei Zimmertemperatur belassen. Der Niederschlag wurde nach 18 Stunden abfiltrirt.

Nr.	Temperatur	Menge des regenerirten Peptons	
		g	%
I	20°	0,348	23,41
II	20°	0,297	20,05
III	40°	0,225	15,14
IV	40°	0,277	18,69

1) Maly, Chemie der Verdauungssäfte und der Verdauung. Hermann's Handbuch.

Das Gewichtsresultat bestätigt also unsere Voraussetzung. Aus dem Verhalten des Hechtchymosins zur Temperatur kann man schliessen, dass es einen von dem ähnlichen Fermente warmblütiger Thiere verschiedenen Stoff darstellt, welcher bei 20° energischer wirkt als bei 40°.

Was den Fortschritt der Fermentation in der Zeit betrifft, so wächst, wie die unten angeführten Versuche zeigen, die Menge des Fermentniederschlages im Laufe der ersten zwei Stunden. Weiter von der dritten bis zur fünften Stunde vergrössert sich die Menge des Fermentationsproductes bedeutend langsamer und nimmt endlich im Laufe der folgenden Stunde nicht mehr zu; mit anderen Worten: es wird die Fermentation im Verlaufe von fünf bis sechs Stunden abgeschlossen. In diesen selben Versuchen kann man den Unterschied in der Wirkung des Chymosins auf das Witte'sche Pepton, vergleichlich mit seiner Wirkung auf die unmittelbar vor dem Versuche bereiteten Peptonlösungen beobachten. So gab eine Mischung von Caseosen schon nach Verlauf einer Stunde einen Niederschlag, während das Witte'sche Pepton sich erst 1 1/2 Stunden nach Beginn des Versuches trübte. Bei den Versuchen mit Peptonen aus Myosin tritt dieser Unterschied noch bemerklicher hervor. Eine bis 40° erwärmte Myosinlösung trübt sich sofort und scheidet schon nach einigen Minuten einen reichlichen Niederschlag aus. Woher dieser Unterschied kommt, wagen wir nicht zu entscheiden; wir beschränken uns nur darauf, ein Factum zu constatiren.

Versuch XVII.

Eine Lösung von Producten der Caseinverdauung, welche von Syntonin und coagulirtem Eiweiss befreit war, wurde in sechs Portionen zu je 10 ccm getheilt. Jede Portion wurde mit 1 ccm Labessenz und 1 ccm Normal-Salzsäure vermischt. Die erste Portion wurde nach 1 Stunde aus dem Thermostat genommen, die zweite nach zwei Stunden u. s. f. Der Niederschlag wurde auf die gewöhnliche Weise bearbeitet.

Nr.	Zeit	Menge des regenerirten Peptons g	Menge des regenerirten Peptons für eine Stunde	Physikalische Eigenschaften
I	1 Stunde	0,0900	0,0900	} Ueberall reichlicher Niederschlag
II	2 Stunden	0,1290	0,0390	
III	3 "	0,1488	0,0198	
IV	4 "	0,1760	0,0272	
V	5 "	0,1970	0,0210	
VI	6 "	0,1980	0,0010	

Versuch XVIII.

Neutrale 16,5%ige Witte'sche Peptonlösung wurde in vier Portionen geteilt und jeder 0,2% HCl und 1 ccm Labessenz hinzugefügt.

Nr.	Zeit	Menge des regenerirten Peptons		Physikalische Eigenschaften
		g	%	
I	Nach 2 St.	0,1520	9,21	} Flockiger Niederschlag
II	" 3 "	0,1620	9,81	
III	" 5 "	0,1720	10,42	
IV	" 24 "	0,1830	11,09	

Endlich blieb noch übrig die Lösung der Frage über die Beziehungen der verschiedenen Verdauungsproducte zum Labferment und die Procentmenge des sich aus diesen Stoffen regenerirenden Eiweisses zu bestimmen. Zu diesem Zwecke wurden Proto-, Hetero-, Deuteroalbumosen, Ampho- und Antipepton hergestellt.

Versuch XIX.

Genaue Gewichtsmengen unten angeführter Peptonisationsproducte wurden in 10 ccm 0,5% HCl gelöst. Der Lösung wurden je 5 ccm dänischer Labessenz zugesetzt und das Gemisch auf 24 Stunden in den Thermostat gestellt. Darauf wurde der Niederschlag abfiltrirt, gewaschen, getrocknet und gewogen.

Nr.	Stoff	g	Menge des regenerirten Stoffes		Physikalische Eigenschaften
			g	%	
I	Protalbumose	0,9920	0,2010	10,09	} Niederschlag
II	Heteroalbumose	1,4250	0,3790	26,59	
III	Deuteroalbumose	2,0000	0,0570	2,85	
IV	Amphopepton	2,0510	0,0190	0,92	} Klare Flüssigkeit
V	Antipepton	2,0700	0,0000	0,00	

Das Resultat des oben beschriebenen Versuches kann man in folgenden Worten formuliren: Je näher das gegebene Verdauungsproduct von Proteinkörpern dem nativen Eiweiss steht, in desto grösserem Maasstabe ist es fähig, Eiweiss unter Mitwirkung von Labferment zu regeneriren. In der That gab Antipepton keinen Niederschlag.

Amphopepton und Deuteroalbumose gaben einen sehr geringfügigen Procentsatz von Eiweiss; jedenfalls wurde aus Deuteroalbumose drei Mal mehr Eiweiss erhalten als aus Amphopepton. Die primären Albumosen gaben eine bedeutend grössere Procent-

menge Eiweiss, und ausserdem regenerirte sich die Heteroalbumose, welche sowohl in ihren Löslichkeitsbedingungen als auch in der Fähigkeit, beim Erwärmen theilweise zu coaguliren, dem Anhydrid-eiweiss näher steht, in grösster Menge in Eiweiss = 25 % der zum Versuche angewandten Menge des Stoffes.

Als Material zur Gewinnung der Producte der Einwirkung des Chymosins auf Peptone gebrauchten wir Albumin aus Eiern, Casein, Myosin und Fibrinosen, letztere in der Form, wie sie im käuflichen Witte'schen Pepton enthalten sind. Zum Zweck der Gewinnung des Eialbumins wurde das filtrirte Eiweiss mit $MgSO_4$ in substantia gesättigt, das Filtrat vom Globulinniederschlage in eine grosse Menge kochenden angesäuerten Wassers gegossen und das Albumincoagulum auf dem Filter bis zum Verschwinden der Sulfatreaction mit Wasser gewaschen. Das Casein wurde aus Milch, welcher die vierfache Menge Wassers zugesetzt war, durch Fällung mit Essigsäure erhalten. Der Niederschlag wurde wiederum mit Wasser verrieben und auf dem Filter bis zur vollständigen Entfernung der Säure gewaschen. Behufs Reinigung wurde der Niederschlag in verdünnter Natronlauge gelöst und das Filtrat wiederum mit Essigsäure gefällt.

Zur Herstellung des Myosins wurde sorgfältig von Fett und von sichtbarem Bindegewebe befreites und in der Hackmaschine zerkleinertes Pferdefleisch mit Wasser bis zur vollständigen Entfärbung gewaschen und mit 10 % iger Lösung von Chlorammonium behandelt. Das Filtrat wurde in Schlauchdialysatoren bis zum Verschwinden der Chlorreaction belassen, der Myosinniederschlag wiederum in 10 % igem NH_4Cl gelöst und abermals der Dialyse unterworfen. Der neue Myosinniederschlag in chlorammoniakalischer Lösung wurde durch Eintragen in eine grosse Menge angesäuerten kochenden Wassers coagulirt und das Coagulum auf dem Filter bis zum Verschwinden der Chlorreaction mit Wasser gewaschen. Die auf diese Weise erhaltenen Stoffe wurden durch künstlichen Magensaft verdaut, welcher durch 24stündige Maceration der Schleimhäute des Schweinemagens mit 0,5 % HCl erhalten worden war. Die Verdauung dauerte bei 40° zwei bis drei Tage. Das verdaute Gemisch wurde hierauf neutralisirt, vom Niederschlage abfiltrirt, das Filtrat mit Essigsäure angesäuert, bis zum Sieden erhitzt und vom ausgeschiedenen Coagulum durch Filtration befreit. Die auf diese Weise vom Eiweiss und vom Syntonin befreite Flüssigkeit wurde neutralisirt und abgedampft. Die concentrirte Lösung der Proteosen wurde mit HCl bis zu einem

Gehalte von 0,4—0,5 % derselben angesäuert und mit $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{10}$ ihres Volumens künstlichem Magensaft oder dänischer Labessenz versetzt und auf 16—18 Stunden bei 40° in den Thermostat gestellt. — Die Substanz, welche als Resultat der Einwirkung des Labfermentes auf Peptone gebildet wird, erscheint, wie schon gesagt, in Form eines feinflockigen, beinahe pulverförmigen Niederschlages, welcher sich entweder zu Boden senkt oder in der Flüssigkeit schwebt, was wie es sich von selbst versteht, von dem Verhältniss der specifischen Gewichte der Lösung und des Niederschlages abhängt. — Das Verfahren zur Isolirung des Stoffes bestand im Allgemeinen in Folgendem. Die Flüssigkeit mit sammt dem Niederschlage wurde auf ein glattes Filter gebracht und, nachdem die Peptonlösung vollständig abgelaufen, wozu 10—18 Stunden erforderlich waren, der Niederschlag mit destillirtem Wasser nachgewaschen. Dieser Theil der Arbeit ist äusserst wesentlich. Nur in dem Falle, dass die Auswaschung ganz zu Ende geführt wurde, d. h. bis das Filtrat die Biuretreaction nicht mehr gab, gelingt es, den vom Filter entfernten Niederschlag in einer kleinen Menge von Lauge zu lösen. Im entgegengesetzten Falle, bei Anwesenheit von Albumosen und Peptonen, welche den Niederschlag einhüllen, muss man zu seiner Lösung solche Quantitäten von Lauge anwenden, die man in keinem Fall als indifferent bezeichnen kann. Wie gesagt, hängt dieser Unterschied dem Anscheine nach von der gleichzeitigen Anwesenheit von Albumosen ab, Stoffen, welche fähig sind, das Alkali zu binden, indem sie mit demselben Verbindungen nach dem Typus der Alkalialbuminate eingehen. In Folge dessen muss man bedeutend mehr Natronlauge anwenden, als eigentlich zur Lösung des Stoffes erforderlich ist.

Nach Beendigung des Auswaschens wird der Niederschlag mit einem Platinspatel in eine Porzellanschale gebracht, wo er nach Möglichkeit in einer solchen Menge Wassers vertheilt wird, dass die Mischung vollständig flüssig ist. Indem man jetzt zu der Mischung tropfenweise normale oder 10 %ige Natronlauge hinzufügt, gelingt es, den Niederschlag vollständig in Lösung zu bringen, — die Flüssigkeit wird augenblicklich klar. Die filtrirte Lösung, mit Essigsäure neutralisirt, scheidet einen umfangreichen Niederschlag des gewünschten Stoffes aus. Dieser wurde abfiltrirt, auf dem Filter mit Wasser ausgewaschen, in einer geringen Menge Natronlauge gelöst und wiederum mit Essigsäure ausgefällt; endlich, nach wiederholter Lösung in Natronlauge und Fällung mit Essigsäure zum dritten Male,

scheidet sich der Stoff aus der genau neutralisirten Lösung vollständig aus; das Filtrat gibt keine Biuretreaction.

Die zur Lösung des Stoffes angewandten Mengen von Natronlauge waren so geringe und wirkten auf den Stoff so kurze Zeit, dass von einem verändernden Einfluss des Alkalis auf den zu untersuchenden Eiweisskörper kaum die Rede sein konnte. Nichtsdestoweniger wurden zur Controle Proben auf den im Filtrat des Neutralisationsniederschlages enthaltenen, in Form von schwefligem Alkali abgespaltenen Schwefel gemacht, jedoch immer mit negativem Resultat. Ferner ist es bekannt, dass das Verhalten der Indicatoren sich in Gegenwart von Eiweissstoffen merklich abändert. Mein geehrter Lehrer Prof. L. S. Morochowetz zeigt unter Anderem, dass man bis dahin, wo die alkalische Eiweissstofflösung nicht die bekannte rosa Färbung mit Phenolphthalein gibt, die Anwesenheit freien, d. h. nicht an das Eiweiss gebundenen Alkalis in der Lösung nicht anerkennen kann.

Wir haben mehrmals mit besagtem Indicator die alkalischen Lösungen des zu beschreibenden Stoffes behandelt; das Resultat war, dass zur Lösung des Stoffes nur eine solche Menge Natronlauge erforderlich war, welche die Färbung des Phenolphthaleins nicht veränderte.

Der zum dritten Male gefällte Stoff wurde auf dem Filter mit Alkohol und Aether behandelt, die feuchte Masse vom Filter genommen, leicht zwischen Filtrirpapier abgepresst, in der Reibschale bis zur Verflüchtigung des Aethers verrieben und bei 105° getrocknet. Der auf diese Weise bereitete Körper hat das Aussehen eines weissen oder schwachgelblichen, staubfeinen Pulvers. In feuchtem Zustande hat der Stoff das Aussehen einer voluminösen, eine grosse Menge Wassers enthaltenden, halbdurchsichtigen Masse.

Der Stoff ist unlöslich in Wasser, löslich in schwachen Alkali- und Säurelösungen; die Lösungen sind vollständig durchsichtig und lassen sich leicht filtriren. Eine Lösung in Soda zeigt häufig leichte Opalescenz. Opalescenz wird übrigens auch in alkalischen Lösungen bemerkt, besonders in dem Fall, wenn sie nicht den mindesten Ueberschuss an Alkali enthalten; so z. B. opalisirt die aus Eieralbumin erhaltene Lösung immer mehr oder weniger. Ihrem Charakter nach ähnelt diese Opalescenz am meisten derjenigen von Lösungen des Myosins in Salmiak.

Ungeachtet dessen, dass der frischgefällte und ausgewaschene Stoff, auf empfindliches blaues Lackmuspapier gebracht, auf demselben

einen rothen Fleck hinterlässt, folglich die Eigenschaften einer Säure hat, ist es uns niemals gelungen, eine Lösung des Stoffes in Alkalien zu erhalten, welche sauer reagirte, wie es z. B. beim Alkalialbuminat beobachtet wird. Der in Wasser mit Calciumcarbonat geschüttelte Stoff verdrängt die Kohlensäure nicht, löst sich auch nicht auf, — es ist wieder das Umgekehrte von dem, was wir beim Alkalialbuminat beobachten. Lösungen in doppeltkohlensaurem Natron werden durch Leiten von Kohlensäure durch eine alkalische Lösung des Stoffes erhalten, wobei er sich anfangs ausscheidet, aber bald darauf, beim Durchströmen von Luft durch die Flüssigkeit, sich wieder auflöst. Hierbei wird eine stark opalisirende, aber leicht, ohne Zersetzung, filtrirbare Lösung erhalten. In Salzlösungen löst sich der Stoff nur in sehr geringer Menge. Wenn man den neutralisirten Niederschlag einige Zeit mit 10% iger Lösung von Salpeter, Kochsalz, oder Salmiak behandelt, so zeigt sich's, dass eine geringe Menge des Stoffes in Lösung geht und man nach dem Filtriren häufig eine opalisirende, häufig eine vollkommen klare Flüssigkeit erhält, welche beim Erhitzen ein Coagulum in Form deutlich bemerkbarer Flocken gibt. Die Erscheinung des Coagulirens wurde so deutlich gesehen, dass es in einigen Fällen möglich war, die Coagulationstemperatur zu bestimmen. Sie schwankte in den Grenzen, entsprechend der Temperatur der Coagulation des Serum-Globulins. — In 10% Chlor-natrium- oder Chlorammoniumlösung wurde die Flockenbildung bei 69° C. beobachtet. Ein Präparat anderer Zubereitung coagulirte in 15% iger Lösung von Salpeter bei 72—75°; noch ein anderes Präparat endlich coagulirte in 10% iger Salpeterlösung bei 75°, nach sehr schwachen Ansäuern mit Essigsäure schon zwischen 65 und 70°.

Die Lösung des Stoffes in Salzen wird bei Verdünnung mit der 10fachen Menge Wassers nicht niedergeschlagen, aber schon ein nicht lang anhaltender Kohlensäurestrom ruft die Bildung eines, sich bei Hinzufügung neuen Salzes wieder auflösenden Niederschlages hervor. Ich wiederhole, dass der Stoff sich in Salzlösungen in sehr geringer Menge löst, in Uebereinstimmung womit auch die Niederschläge sehr geringe waren; aber in jedem Falle wurde die Bildung derselben nur dann vermerkt, wenn sie deutlich sichtbar war; im entgegengesetzten Falle wurde der Versuch verworfen. Am meisten löslich in Salzlösungen erwies sich der aus dem Witte'schen Pepton erhaltene, folglich aus Fibrin hervorgegangene Eiweissstoff. Die aus anderen Eiweisskörpern erhaltenen Stoffe sind so wenig in Salz-

lösungen löslich, dass es uns nicht gelang, die Temperatur ihrer Coagulation zu bestimmen.

Eine Lösung des auf oben beschriebene Weise bereiteten Stoffes in Aetznatron oder -Kali gibt, wenn sie keinen grossen Ueberschuss an Alkali enthält, folgende sehr charakteristische Reactionen. Beim Erwärmen erstarrt die Lösung zu einer durchsichtigen, gallertartigen Masse, welche beim Umstülpen des Probirröhrchens nicht ausfliesst. Die Bildung der Gallerte geschieht während der Erwärmung, so dass die schon heisse Lösung zu einer dichten Masse erstarrt, welche bei weiterem Erhitzen in einem Stück von den Gasbläschen gehoben wird, die sich vom Boden des Probirgläschens absondern. Ein Ueberschuss von Alkali hebt die Fähigkeit des Stoffes auf, beim Kochen Gallerte zu bilden. Gallerte wird in den Fällen gebildet, wenn der Stoffgehalt der Lösung nicht weniger als 3% beträgt; stärker verdünnte Lösungen geben keine gleichförmige Gallertmasse, sondern scheiden lockere, mit Gasbläschen durchsetzte, durchsichtige Flocken des Coagulums ab, welche sich nach einigem Stehen von der Flüssigkeit absondern und zu Boden sinken. Die Consistenz der Gallerte ist ziemlich eigenthümlich und ähnelt keiner der bekannten Coagulationsarten. Unsere Gallerte erinnert ihrer Consistenz nach weder an das Coagulum des Blutplasmas noch an das des Leimes; sowohl dieses als jenes stellen, wie bekannt, mehr oder weniger elastische und, was die Hauptsache ist, cohärente Massen dar, während die zu beschreibende Gallerte keineswegs elastisch ist, sondern sich leicht in Stückchen zerreiben lässt. Wie schon gesagt, coaguliren stärker verdünnte Lösungen des Stoffes nicht im Ganzen, sondern scheiden ebenso durchsichtige, wie die obige Gallerte, aber nicht zusammenhängende Flocken aus. Wenn wir uns die Menge dieser Flocken so vermehrt vorstellen, dass sie die ganze Flüssigkeit ausfüllen, so erhalten wir in Wirklichkeit Gallerte; durch diese Darstellung, glauben wir, erklärt sich die charakteristische Consistenz der hier beschriebenen Gallerte am besten. Sie besteht aus durchsichtigen, gallertartigen Coagulumflocken, aber bei der angeführten Concentration (3%) der Lösung erfüllt dieses Coagulum die ganze Flüssigkeit. Der folgende Versuch erhärtet die gegebene Erklärung noch mehr und erklärt die charakteristische Consistenz der Gallerte. Beim Einleiten von CO_2 in die alkalische Lösung des Stoffes entsteht ein sogenannter Neutralisationsniederschlag. Wenn man aber in ein

Glas eine nicht hohe Schicht einer starken Lösung des Stoffes giesst und CO_2 über die Lösung leitet (die Gasleitungsröhre darf nicht in die Flüssigkeit eintauchen, sondern muss nahe ihrer Oberfläche enden), verwandelt sich die Flüssigkeit in eine Gallerte.

Aus den Reactionsbedingungen folgt von selbst, dass die Gallerte aus einzelnen Flocken des Neutralisationsniederschlages besteht: die Flüssigkeit verdickt sich nur deshalb, weil die Flocken die ganze Wassermenge der Lösung binden.

Die hier beschriebene Reaction bietet ein typisches Beispiel einer Coagulation durch Wärme dar. Das Coagulum bildet sich während des Erwärms der Flüssigkeit; bei einer gewissen Concentration scheidet es sich aus der Flüssigkeit aus und setzt sich am Boden des Probirgläschens an; der Unterschied von den gewöhnlichen Eiweisskörpern besteht in der Durchsichtigkeit des Coagulums. Das Coagulum ist so locker, es enthält eine solche Menge Wassers eingeschlossen und zeigt so wenig Neigung sich zu sammenzuziehen, einzuschrumpfen, dass sein Brechungscoefficient gleich oder fast gleich ist dem Brechungscoefficienten der anfangs angewandten Lösung; im Falle der Stoffgehalt nicht weniger als 3% beträgt, wird alles Wasser der Lösung gebunden und eine Gallerte erhalten. Im Falle einer weniger concentrirten Lösung bindet das Coagulum nur einen Theil des Wassers, — es erscheinen durchsichtige Flocken, welche im Ueberschuss des Wassers schwimmen.

Die geschilderte Coagulation findet bei Abwesenheit bemerkbarer Mengen von neutralen Salzen statt. So hinterliess das trockene, durch dreimalige Fällung gereinigte Präparat nicht mehr als 0,95% Asche. Folglich, indem wir 3% Lösung anwandten, hatten wir darin nicht mehr als 0,026% Salze, eine so unbedeutende Menge, dass man sie nicht zu beachten braucht. Bei Gegenwart sogar sehr kleiner Mengen neutraler Salze gibt die Lösung auch ohne Erwärmen eine ebensolche Gallerte. So verwandelte sich eine Lösung des Stoffes in den Salzen des Ochsenblutserums nach 10—12 Stunden bei gewöhnlicher Zimmertemperatur freiwillig in Gallerte. Augenscheinlich besteht ein gewisses bestimmtes Verhältniss zwischen der Menge des Alkalis und dem Salzgehalt der Lösung, welches die Bildung der Gallerte besonders begünstigt, weil die eben erwähnte Gallerte sich z. B. bei Zusatz von Soda und Aetznatron auflöste.

Wenn man den Gehalt an Neutralsalzen noch mehr erhöht (wir

gebrauchten 2—3 Tropfen einer gesättigten Salzlösung auf 5—10 ccm der Lösung des Stoffes), erfolgt die Verwandlung in Gallerte bei gewöhnlicher Temperatur schon nach einigen Minuten. Diese Gallerte entspricht ihrer Consistenz und ihrem Aussehen nach vollständig derjenigen, welche bei Coagulation durch Wärme erhalten wurde. Der einzige Unterschied besteht vielleicht in der etwas grösseren Opalescenz einiger Salzgallerten. Dieser äusseren Aehnlichkeit entspricht auch die Aehnlichkeit der Bedeutung und der Ursache der Erscheinungen in diesem und jenem Falle. Die Salze geben eine Gallerte, indem sie den Stoff ebenso aus der Lösung fällen, wie es bei der Erwärmung in Abwesenheit von Salzen geschieht. Der Niederschlag gibt Gallerte, indem er alles Wasser der Lösung bindet. Dass dem so ist, kann man aus dem Verhalten stärker verdünnter Lösungen des Stoffes zu Salzen beweisen. Die letzteren verwandeln sich in Folge ihres geringen Eiweissgehaltes nicht in eine zusammenhängende Gallerte, sondern scheiden voluminöse, halb durchsichtige, flockige Niederschläge ab. Wenn wir die Concentration noch weiter vergrössern, erhalten wir schon undurchsichtige Gallerten und Niederschläge. Die Undurchsichtigkeit hängt augenscheinlich davon ab, dass die neutralen Salze den Flocken des Niederschlages Wasser entziehen.

Von den verschiedenen Salzen schlagen den geschilderten Stoff am leichtesten die Sulfate und Chloride nieder; darauf folgen die Nitrate und endlich die Carbonate, welche Niederschläge nur aus starken Lösungen geben; auf verdünnte Lösungen wirken sie nicht ein. Die löslichen Salze der Erdalkalien (Ba, Ca, Sr, Mg) rufen den Niederschlag in minimalen Mengen hervor; ebenso die Salze der Schwermetalle, z. B. schwefelsaures Kupferoxyd, neutrales und basisches Bleiacetat, Sublimat, salpetersaures Quecksilberoxydul und -Oxyd, salpetersaures Silberoxyd, Eisen- und Platinchlorid, — diese alle geben Gallerten.

Die geschilderten Reactionen sind so charakteristisch, dass sie gestatten, mit unfehlbarer Sicherheit Stoffe verschiedener Herkunft zu identificiren. Wir haben Producte untersucht, die aus Fibrin, Casein, Eiweissalbumin und Myosin bereitet waren; alle gaben vollständig übereinstimmende Reactionen. Davon ausgehend, dass nichts diesen Stoff so charakterisirt wie sein Bestreben, in Hydrogel überzugehen und dasselbe dabei in Form von durchsichtigen Gallerten

zu bilden, schlagen wir vor, ihn Plastein zu nennen; diese Benennung wollen wir auch in der weiteren Darlegung gebrauchen.

Das Plastein gibt alle Farbenreactionen der Eiweisskörper, — besonders schön gelingt die Reaction von Adamkewicz und Liebermann; mit Kupfersulfat und Aetznatron (Biuretreaction) wird eine purpurviolette Färbung erzielt, welche an die Reaction der Albumosen und Peptone erinnert. — Uebrigens geben, wie bekannt, eine purpurne Färbung unter den angedeuteten Bedingungen auch echte Eiweissstoffe, wie z. B. das krystallinische Vitellin.

Die Gewinnung gallertartiger Niederschläge ist keine Neuigkeit in der Chemie der Eiweisskörper. Es gab eine Zeit (Mitte der 80er Jahre), wo die Frage über den Gallertzustand der Eiweisskörper die Gelehrten, besonders die russischen Physiologen, bedeutend beschäftigte. — Wir wollen uns bemühen, eine gedrängte historische Uebersicht der Arbeiten zu geben, welche der Bearbeitung dieser Frage gewidmet waren.

Nathanael Lieberkühn¹⁾ erhielt zuerst Gallerten aus Eiweiss, indem er auf letzteres mit mehr oder weniger energischen Reactionen einwirkte, wie z. B. mit starker Essigsäure, starker Aetzkalklösung u. s. w. Lieberkühn bestimmte mit seinen classischen Versuchen die Richtung aller folgenden Arbeiten über diese Frage; daher erscheint es uns selbstverständlich, ausführlicher bei der Methodik und den Resultaten Lieberkühn's zu verweilen. „Die durchsichtige Gallerte,“ sagt der Autor, indem er das Verhalten des Eiweisses zu Aetzkali schildert, „welche durch Hinzufügen einer kleinen Menge Aetzkali zur concentrirten Eiweisslösung erhalten wird, löst sich bei Gegenwart einer genügenden Menge von Alkali beim Erwärmen und gelatinirt nicht mehr beim Erkalten. Mit dem gleichen Volumen Wasser verdünntes Eiweiss blieb nach Zusatz einer geringen Menge Aetzkali bei gewöhnlicher Temperatur flüssig, erstarrte aber bei vorsichtigem Erwärmen zur Gallerte.“ —

Ganz ebensolche Gallerten werden bei Einwirkung von Aetznatron erhalten. Im letzteren Falle, in Folge des Umstandes, dass der Versuch in einem silbernen Gefäss gemacht wurde, konnte der

1) Lieberkühn, Müller's Archiv für Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche Medicin 1848. — Lieberkühn, Poggendorff's Annalen Bd. 86. 1852. — Lieberkühn, Virchow's Archiv Bd. 5. 1853.

Autor die Abspaltung einer grossen Menge Schwefel constatiren, welcher den Tiegel mit einem schwarzen Anfluge von Schwefelsilber bedeckte. Mit Ammoniak bei Anwendung von Kälte gelang es dem Autor nicht, eine Gelatinirung zu erreichen; als die Mischung jedoch vorsichtig erwärmt wurde, erstarrte sie zu einer durchsichtigen, homogenen Masse, vollständig ähnlich derjenigen, welche mit nicht flüchtigen Alkalien erhalten worden war.

Vermittelst Einwirkung concentrirter organischer Säuren (Eiweiss, mit der doppelten Menge Wassers verdünnt, wurde z. B. mit dem gleichen Volumen starker Essigsäure vermischt), ebenso der Phosphorsäure gelang es dem Autor ebenfalls, gallertartige Massen zu erhalten. Endlich verwandelten Alkohol und Aether unter gewissen Bedingungen das Eiweiss gleichfalls in Gallerte. Aus der angeführten Beschreibung der von Lieberkühn zur Gewinnung von Gallerten angewandten Methoden ist es leicht zu ersehen, dass der Autor den Stoff unter seinen Händen hatte, der gegenwärtig den Namen „denaturirter Eiweissstoffe“ trägt, d. h. Alkalialbuminate oder Acidalbumine. Das Verfahren des Autors war so energisch, dass die Gallerten natürlich in keinem Fall als unverändertes Albumin gelten konnten, sondern in ihrer Zusammensetzung von diesem verschiedene Stoffe darstellten, da sie mindestens ein Atom Schwefel weniger besaßen als das natürliche Eiweiss. Ebenso konnte man die Einwirkung concentrirter organischer Säuren kaum für eine indifferente Reaction halten, welche nicht einen mehr oder weniger tiefen Einfluss auf die Constitution der Eiweissmoleküle hinterlassen haben sollte. Es ist bekannt, dass die Acidalbumine sich nach den Reactionen wie auch nach ihrer Zusammensetzung von den Stoffen, von denen sie herkommen, unterscheiden.

Nach annähernd derselben Methode wurden gallertartige Massen aus dem Serumglobulin erhalten [Brücke¹⁾]. Rollett²⁾ erreichte das Gelatiniren der Eiweissstoffe dadurch, dass er das bis zur Hälfte verdunstete Blutserum mit Säurelösungen dialysirte oder es einfach mit kleinen Mengen von Mineralsäuren versetzte. Fokker³⁾ erhielt Gallerten von Kalk- und Magnesiaalbuminat, indem er Eiweiss mit MgO mischte oder aber auf die Oberfläche desselben eine Schicht

1) Brücke, Sitzungsber. der Wiener Akademie Bd. 55.

2) Rollett, Sitzungsber. der Wiener Akademie Abth. 3 Bd. 84. 1881.

3) Pflüger's Archiv Bd. 7. 1873.

Aetzkalk brachte. Alle erwähnten Forscher halten selbst ihre Präparate für denaturirte Eiweissstoffe, indem sie dieselben geradezu Alkalbuminate oder Acidalbumine (Syntonine) nennen, und eine solche Stellung zur Frage ist nach unserer Ansicht durchaus logisch. In der That, von einem Stoffe ausgehend, dessen Lösung keine gallertartigen Niederschläge gibt (als classisches Versuchsobject erscheint das Eieralbumin), und auf denselben mit Säuren und Alkalien einwirkend erhielten die Autoren einen neuen Stoff, dessen charakteristische Eigenschaft die Gallertbildung war. Aus den Bedingungen des Versuches folgt ganz von selbst der Schluss, dass die Veränderung der Reactionen des Stoffes ihren Ursprung dem verändernden Einfluss des Agens, welches vom Experimentator benutzt worden war, verdankt; mit anderen Worten, dass die Gallerten nicht auf Kosten des Albumins, sondern auf Kosten seiner Alkali-Säureverbindungen gebildet werden. Derart waren auch die Folgerungen aller aufgezählten Autoren.

Als einzige Ausnahme erscheinen die Arbeiten Michailow's und seiner Schüler¹⁾. Michailow bemüht sich, zu beweisen, dass auch die unveränderten Eiweissstoffe, in Sonderheit das Eieralbumin, die Fähigkeit besitzen, unter gewissen Bedingungen in den Gallertzustand überzugehen, ohne eine ihrer Eigenschaften zu verändern. Es fragt sich nun, welches diese Bedingungen sind.

„Das gallertartige Ammoniakalbuminat . . . wird nach unseren Versuchen durch Vermischen gleicher Volumina durchgeseihten Eiweisses und käuflichen (10 %) Ammoniaks und darauffolgendes Erhitzen über der Flamme eines Gasbrenners oder im Wasserbade erhalten“.

„Die auf solche Weise erhitzten Lösungen erstarrten bei der Abkühlung im Schnee zu einer glasartigen, durchsichtigen Masse und verwandelten sich bei wiederholtem Erwärmen und Abkühlen wiederholt in Flüssigkeit und feste Masse. Wurde das Eiweiss mit

1) Михайловъ, О студенистомъ состояніи бѣлковыхъ веществъ. Дисс. С. П.-Б 1888. (Michailow, Ueber den Gallertzustand von Eiweisskörpern. Diss. St. Petersburg 1888. Russisch.) — Михайловъ и Хлопинъ, Журн. русск. физико-химическ. общ. 18. 1886. (Michailow und Chlopin, Journal d. russ. physik.-chem. Gesellsch. 1886. Russisch.) — Савинъ, Журналъ русск. физико-химическ. общ. 19. 1887. (Sawin, ebendas. 1887. Russisch.) — Соловьевъ, Журналъ русск. физико-химическ. общ. 19. 1887. — Solowiew, ebendas. 1887. Russisch.)

dem Ammoniak nicht lange und nicht bis auf 100° erwärmt, so konnte in dem Waschwasser der Ammoniakgallerte bei der Bleiprobe keine Spur von abgespaltenem Schwefel nachgewiesen werden.

„Wenn das auf das Doppelte verdünnte Eiweiss zum Zwecke der Entfernung des Globulins und der vorgebildeten Gallerte nicht bis zum anfänglichen Volumen, aber auf etwas weniger, auf $\frac{2}{3}$ etwa, condensirt wird, und mittelst eines dünnen Glasstäbchens Aetzkali-lösung mittlerer Concentration in minimalen Mengen zugesetzt wird, so erhält man eine „gelatinöse“ Gallerte, eine ebensolche wie aus dem Ammoniak, d. h. eine solche, welche sich bei wiederholtem Erwärmen und Abkühlen wiederholt verflüssigt und erstarrt, die jedoch fast immer, wenn auch nur einen Theil ihres nicht oxydirten Schwefels eingebüsst hat, welcher sich im Waschwasser der Gallerte leicht durch die Bleiprobe in Form einer Trübung erkennen lässt“ (S. 307, 308). „Gewöhnliches Acid. acetic. glacial., mit $\frac{1}{5}$ Wasser versetzt und mit dem gleichen Volumen auf das Doppelte verdünnten und durchgeseihten Eiweisses gemischt, gibt sowohl in der Kälte wie auch beim Erwärmen eine Gallerte mit ihren gewöhnlichen Eigenschaften“ (S. 308).

Aus dem Angeführten ersieht man, dass die Methoden, nach denen Michailow und Chlopin ihre Gallerten erhielten, genau den oben citirten Methoden Lieberkühn's entsprechen. Indem behaupten die Autoren, dass die von ihnen dargestellten Producte mit den Alkalialbuminaten nicht identisch seien, sondern unverändertes Albumin darstellen. Ihre Schlussfolgerung begründen die Autoren auf die Abwesenheit von Schwefelmetallen in dem Waschwasser der Ammoniakgallerte, wenn letztere nicht lange und nicht bis auf 100° erhitzt worden war. Mit anderen Worten: in der Methode der Gewinnung der Ammoniakgallerte sind Bedingungen für die Abspaltung nicht oxydirten Schwefels gegeben, und diese Abspaltung wird gewöhnlich beobachtet. Nur unter besonderen Vorsichtsmaassregeln gelingt es manchmal, eine Gallerte zu erhalten, welche an das Waschwasser kein Schwefelalkali abgibt. Die durch Einwirkung von Aetzkali erhaltene Gallerte, welche übrigens mit der Ammoniakgallerte vollständig übereinstimmt, gibt an das Waschwasser immer Sulfid ab. Unwillkürlich drängt sich die Frage auf, ob die Abwesenheit der Bleireaction im ersteren Falle nicht einfach auf Zurückhaltung der Schwefelalkalien durch die Gallerte beruht. Es ist bekannt, wie energisch die Gallerten der Alkalialbuminate nicht nur Salze, sondern

auch die bei Weitem leichter diffundirenden Alkalien zurückhalten. Jedenfalls wäre es richtiger gewesen, auf Schwefelmetalle nicht das Waschwasser der Gallerte, sondern das Filtrat des Neutralisationsniederschlages zu untersuchen. Leider haben die Autoren keinen solchen Versuch beschrieben.

Ein anderer Beweis der Autoren für den Albumincharakter ihrer Gallerten ist auf folgende Versuche begründet: „Nach Ueberführung der Gallerte in wässrige Lösung und nach Entfernung des Alkali oder der Säure aus der Reactionssphäre werden Stoffe erhalten, welche in ihren wesentlichen Merkmalen mit den noch nicht in Gallerte verwandelten Stoffen identisch sind; so z. B. erwies sich das durch schwache Säure oder Alkalien in Gallerte und aus dieser in wässrige Lösung übergeführte Eieralbumin ebenso coagulationsfähig wie gewöhnliche Eiweisslösung (S. 305).

Der Versuch in der Ausführung, wie dieselbe im oben angeführten Citat geschildert ist, hat durchaus nicht die Bedeutung, die ihr die Autoren zuschreiben, und lässt eine Erklärung zu, die gar keiner Hülfsypothesen bedarf, also desto wahrscheinlicher ist. In der That haben die Autoren keine genauen quantitativen Versuche angestellt, die bewiesen hätten, dass die Reaction zwischen dem Eiweissstoffe und dem Alkali oder der Säure zu Ende gelangt wäre, und dass aller Eiweissstoff sich in eine Alkali- oder Säureverbindung verwandelt hätte. Im Gegentheil kann man aus den Worten der Autoren, dass die Kaligallerte „sich fast immer, wenn auch nur eines Theiles ihres nicht oxydirten Schwefels beraubt erweist“, schliessen, dass unter den Bedingungen des Versuches sich nur ein Theil des Eiweisses in Albuminat verwandelt, der andere jedoch unverändert bleibt. Eben diesem unveränderten Theil verdankt die Gallerte ihre Fähigkeit, nach Entfernung des Alkali oder der Säure zu coaguliren. Mit anderen Worten erklärt sich der von den Autoren angeführte Versuch nach unserer Ansicht folgendermaassen. Ein Theil des Eiweisses geht in Syntonin oder in Alkalialbuminat über, und dieser Theil zeigt die Erscheinung der Gelatinirung; der unveränderte Theil nimmt an der Gallertbildung keinen Antheil. Bei nachfolgendem Kochen der wässrigen Gallertlösung ist das denaturirte Eiweiss an der Bildung des Hitzecoagulum nicht betheiligt; das letztere wird ausschliesslich auf Kosten des unveränderten Theiles des Eiweisses gebildet; kurz, die Gallertbildung und die Wärmecoagulation erscheinen als die Reactionen nicht eines

und desselben Stoffes, sondern zweier verschiedener, gleichzeitig in der Flüssigkeit vorhandener Körper, dieses in Folge des Umstandes, dass die Reaction des Eiweissstoffes mit der Säure nicht abgeschlossen war.

Aus dem Gesagten geht hervor, dass Michailow's Beweise für den Albumincharakter seiner Gallerten wenig überzeugend sind und in jedem Falle weiterer Versuche bedürfen. —

Es fragt sich nun, ob die Fähigkeit, gallertartige Niederschläge zu bilden, dem Plastein als solchem eigenthümlich ist, oder ob sie nur als Resultat der Behandlung des Stoffes mit alkalischen Lösungen erscheint, verbunden mit dem Uebergang des Plasteins in Alkalialbuminat.

Aus der vorhergesandten historischen Uebersicht unserer Kenntnisse der gallertartigen Eiweissstoffe ist zu sehen, dass alle von den Autoren beschriebenen Gallerten zu den Eiweissstoffen gehören, welche durch mehr oder weniger energische Reaction verändert sind, und dass sogar zur Gewinnung der Coagula der „unveränderten“ Eiweissstoffe Michailow's die Anwendung eines durchaus nicht indifferenten Agens erforderlich war, wie es die 5 %ige Ammoniaklösung ist. —

Alle Forscher hatten Alkalien und Säuren zur Gewinnung von Gallerten aus solchen Eiweissstoffen (das classische Object für alle ähnlichen Versuche ist das Hühnereiweiss) angewandt, die auch schon vor der Behandlung mit Alkalien sich in Lösung befanden und zur Auflösung kein Alkali erfordern. Die wässrige Eiweisslösung gibt keine gallertartigen Niederschläge, und man muss dieser Lösung Reactive zusetzen, damit sie zur Gallerte erstarre. Es ist klar, dass die Anstellung des Versuches unter den angeführten Bedingungen auf den Gedanken an die verändernde Wirkung des Reactivs auf den Eiweisskörper bringt, was auch durch den directen Versuch bewiesen wird. Bei der Bildung des Kali- und Natronalbuminats wird Schwefel abgespalten, und als Resultat der Reaction wird ein vom Albumin nach seiner Zusammensetzung verschiedener Körper gebildet.

In unserem Falle kann kaum von einer verändernden Wirkung des Alkalis auf das Plastein die Rede sein, weil wir durch den Zusatz von Alkali nicht die Veränderung der Eigenschaften des schon gelösten Stoffes bewirken (wie bei den Versuchen der Autoren bei der Bildung von Gallerten aus Eiweiss), sondern nur den in reinem Wasser unlöslichen Stoff in Lösung bringen; sobald nur der Alkali-

gehalt die in Wirklichkeit minimale Grösse erreicht hatte, welche zur Lösung des Stoffes erforderlich war, zeigte dieselbe die Erscheinung des Gelatinirens; ein Ueberschuss an Alkali beförderte nicht nur nicht die Bildung von Gallerten (wie man wohl meinen könnte, wenn man als Grund der Reaction den Uebergang des Plasteins in Alkalialbuminat annähme), sondern schwächte dieselbe vielmehr ab oder vernichtete die Fähigkeit des Stoffes, gallertartige Niederschläge zu bilden, völlig. In der Chemie der Eiweisskörper gilt es als Factum, dass sehr verdünnte Alkalien Eiweiss lösen, ohne seine Eigenschaften zu alteriren. — So erhielt z. B. Herr Alex. Schmidt, indem er Paraglobulin in Alkali löste, durch Neutralisiren der Lösung einen Stoff mit unveränderten Eigenschaften. — Mit einem Worte: die Anwendung von verdünntem Alkali zur Lösung des unter anderen Bedingungen unlöslichen Eiweissstoffes kann kaum irgendwelche Zweifel betreffs der denaturirenden Wirkung des Lösungsmittels erwecken. Mehr noch: diese selben Eigenschaften äussert das Plastein noch vor irgend welcher Bearbeitung unter natürlichen Fermentationsbedingungen, wenn der Stoff noch mit keinem einzigen Alkalimolekül in Berührung getreten ist. In allen oben beschriebenen Versuchen, wo der Stoffgehalt der Flüssigkeit 3% betrug, wurde in dem sauren Mittel, bei Anwesenheit von 0,18—0,73% HCl, die Bildung von gallertartigen Niederschlägen beobachtet. Die Bildung von Gallerten in den fermentirenden Flüssigkeiten wurde vielfach von uns beobachtet und kann jeden Augenblick bewerkstelligt werden — man braucht nur sich auf die oben angeführten Daten stützend, solche Bedingungen auszuwählen, unter welchen die Menge des sich bildenden Plasteins nicht weniger als der angeführte Procentsatz betrüge. — Wir halten die Gelatinirung der Peptonlösungen unter Einwirkung des Labferments auf dieselben für besonders typisch für den zu untersuchenden Process, da in diesen Fällen die charakteristische Eigenschaft des Plasteins, die Bildung von gallertartigen Niederschlägen, sich unmittelbar während der Fermentation selbst äussert, ähnlich, wie die Auflösung der Eiweissstoffe bei Einwirkung des Pepsins und Trypsins die Möglichkeit darbietet, auf die Bildung neuer, leicht löslicher Stoffe, der Peptone, zu schliessen.

Ferner waren die von uns angewandten Alkalimengen so unbedeutend, dass die Lösung die Farbe des Phenolphthaleins nicht veränderte; es ist klar, dass sie keine Spur freien Alkalis enthielt;

die ganze Menge des Aetznatrons, welche zur Lösung des Plasteins erforderlich ist, befindet sich, aller Wahrscheinlichkeit nach, in einer besonderen, salzartigen Verbindung mit dem die Eigenschaften einer schwachen Säure besitzenden Eiweissstoff. (Vgl. die oben geschilderte Reaction des Neutralisationsniederschlags auf Lackmus.) Nichtsdestoweniger haben wir das Filtrat des Neutralisationsniederschlags vielfältig auf den Gehalt an Schwefelalkalien untersucht, aber sogar beim Verdampfen des neutralen Filtrats bis auf $\frac{1}{10}$ seines ursprünglichen Volums ist es uns niemals gelungen, eine Spur von Bräunung bei der Reaction mit Bleisalzen zu constatiren. Solches sind die Erwägungen, welche nach unserer Ansicht die Möglichkeit der Bildung von Alkalbuminat bei der von uns angewandten Behandlung des Plasteins ausschliessen. Aber gegenwärtig haben wir, dank den Untersuchungen Mörner's, Daten in den Händen, welche uns auf Grund qualitativer Reactionen und einiger quantitativer Verhältnisse des zu untersuchenden Stoffes erlauben, mit Bestimmtheit die Frage zu lösen, ob derselbe ein Alkalbuminat ist oder nicht.

Mörner¹⁾ charakterisirt das Alkalbuminat auf folgende Weise:

Der Neutralisationsniederschlag des Alkalbuminats erscheint in Form von undurchsichtigen, sauer reagirenden Flocken, während der Niederschlag des Syntonins mehr gallertartig ist und weniger sauer reagirt. Das Alkalbuminat ist sowohl in Alkalien als auch in zweibasischem phosphorsaurem Natrium löslich; das Syntonin löst sich in Alkalien schwerer, in Na_2HPO_4 nur theilweise, das Alkalbuminat löst sich in Wasser, in welchem Calcium-, Baryum-, Strontium- oder Magnesiumcarbonate suspendirt sind, indem es aus diesen Salzen die Kohlensäure verdrängt; das Syntonin ist nicht im Stande, die Kohlensäure aus den kohlensauren Erdalkalien zu verdrängen, und geht dementsprechend nicht in Lösung. Das Alkalbuminat erscheint auf diese Art als eine ziemlich energische, dem Anscheine nach mehrbasische Säure; wenigstens reagirt eine Lösung von Alkalbuminat in sehr verdünnter Sodalösung sauer. Das Syntonin gibt ausschliesslich alkalisch reagirende Sodalösungen. — Alkalbuminat in Sodalösung coagulirt beim Erhitzen in einer zugeschmolzenen Glasröhre bei 120° , Syntonin ist unfähig, die Erscheinung der Wärmecoagulation zu zeigen. — Chlornatrium und

1) Mörner, Pflüger's Archiv Bd. 17.

schwefelsaures Natrium in Substanz fällen das Alkalialbuminat leicht, Chlorammonium fällt den Stoff schwer und nicht vollständig. Eine gesättigte Kochsalzlösung fällt das Alkalialbuminat viel schwieriger, als das Syntonin. Kleine Mengen von Chlorcalcium und -Baryum geben einen Niederschlag, der im Ueberschuss des Reactivs löslich ist, sich aber bei Verdünnung mit Wasser wieder ausscheidet — eine Reaction, welche für Alkalialbuminat und Syntonin gemeinsam ist. Salzsäure und Essigsäure fällen das Alkalialbuminat nur bei saurer Reaction der Lösung, während das Syntonin mit Säuren einen Niederschlag noch bei alkalischer Reaction liefert. Besonders charakteristisch ist das Verhalten des Alkalialbuminats zu phosphorsauren Salzen. Eine Lösung von Alkalialbuminat in Soda bei Anwesenheit von neutralem Natriumphosphat gibt mit Säuren nur dann einen Niederschlag, wenn alles Phosphat in saures Salz übergeführt ist. — Durch saures phosphorsaures Natrium (einbasisches) wird die Lösung des Alkalialbuminats in Soda bei gleichzeitiger Anwesenheit neutralen Phosphats nur dann niedergeschlagen, wenn auf 1 Molekül des neutralen Salzes 35—45 Moleküle des sauren Salzes kommen. Die Lösung in phosphorsaurem Natrium wird von dem sauren Phosphat auch nur dann gefällt, wenn 35—45 Moleküle des sauren auf 1 Molekül des neutralen Salzes kommen. Eine Lösung von Alkalialbuminat in 0,1 % Salzsäure gibt einen Niederschlag beim Neutralisiren. Dieser Niederschlag löst sich bei Gegenwart von NaH_2PO_4 bei weiterem Hinzufügen von Alkali sofort, wenn nur ein kleiner Theil des sauren Phosphats in neutrales Salz übergegangen ist. —

Die Lösungen von Syntonin werden unter den angeführten Bedingungen von Säuren schon in dem Moment gefällt, wenn das Verhältniss zwischen Molekülen des neutralen und des sauren Phosphats 1 : 5 erreicht. Der Syntoninniederschlag, welcher bei der Neutralisation der sauren Lösung bei Anwesenheit von saurem Phosphat erhalten worden ist, löst sich bei weiterem Alkalizusatz nur dann, wenn der grösste Theil des Phosphats in neutrales Salz übergegangen ist. —

Die Untersuchungen Mörner's geben ein sehr charakteristisches Bild von den Reactionen der Alkalialbuminate, was uns gestattet, sich ihrer bei der Lösung der uns beschäftigenden Frage zu bedienen: stellt das Plastein ein denaturirtes Eiweiss, ein Alkalialbuminat dar?

Die Unterschiede in den Eigenschaften des Plasteins

von denen des Alkalialbuminats begreifen alle diejenigen Reactionen in sich, welche für letzteren Körper charakteristisch genannt werden müssen.

Führen wir jetzt die Eigenschaften des Plasteins in derselben Ordnung vor, in welcher wir die Eigenschaften des Alkalialbuminats aufgezählt haben, um die Möglichkeit einer bequemeren Vergleichung dieser Körper zu bieten. —

Eine Lösung von Plastein in Soda oder in Aetznatron reagirt auf Lackmuspapier immer alkalisch, und trotz vielfacher Versuche ist es niemals gelungen, eine sauer reagirende Lösung von Plastein in Alkali zu erhalten. In der Lösung von neutralem phosphorsaurem Natrium ist das Plastein unlöslich, ebenso in Wasser bei Gegenwart von Carbonaten der Erdalkalien. Plastein gibt ein Coagulum beim Erwärmen der alkalischen Lösung bis unter die Siedetemperatur. Eine der am meisten bekannten Reactionen des Alkalialbuminats ist eben das Nichtcoaguliren beim Kochen der Lösungen dieses Körpers. Von den Neutralsalzen fällt, wie gesagt, nicht nur der Salmiak des Plasteins, sondern auch die Alkalinitrate, und sogar die kohlen-sauren Alkalien geben mit den Lösungen des Plasteins Niederschläge. Das Verhalten des Stoffes zum Salpeter und besonders zu den kohlen-sauren Alkalien kann als wesentliches Unterscheidungsmerkmal desselben nicht nur vom Alkalialbuminat, sondern auch von anderen Eiweissstoffen gelten. Eine gesättigte Lösung von Kochsalz wie auch von den andern oben erwähnten Salzen, fällt das Plastein schon bei Hinzufügung von 2—3 Tropfen. Chlorcalcium und -Baryum geben in verschwindenden Mengen Niederschläge, welche im Ueberschusse des Fällungsmittels unlöslich sind. Säuren geben einen Neutralisationsniederschlag schon lange vor der gänzlichen Neutralisation der Flüssigkeit, wenn letztere noch deutlich die alkalische Reaction zeigt. —

Endlich kann das Verhältnis des Plasteins zu den Natriumphosphaten als ein noch schärferes Unterscheidungsmerkmal dienen. Plastein ist in neutralem Natriumphosphat ganz unlöslich. Alkalische Plasteinlösung wird in Gegenwart von Na_2HPO_4 von Säure schon in dem Moment gefällt, wenn das Molekülverhältniss des neutralen Phosphates zu dem sauren nur 1 : 0,5 beträgt. Folglich wird das Plastein durch Säure unter den angeführten Bedingungen nicht nur unvergleichlich leichter als das Alkalialbuminat niedergeschlagen, sondern auch zehn Mal leichter als das Syntonin, da bei der Bildung

des Neutralisationsniederschlags des letzteren das Molekülverhältniss Na_2HPO_4 zu $\text{NaH}_2\text{PO}_4 = 1 : 5$ ist.

Die Versuche, auf Grundlage derer das besagte Verhältniss erreicht wurde, wurden auf folgende Weise angestellt. Plastein aus Witte'schem Pepton wurde in Aetznatron gelöst und diese Lösung mit 0,1%iger HCl neutralisirt. Eine Lösung von phosphorsaurem Natrium wurde in solcher Stärke zubereitet, dass bei Vermischung gleicher Volumina der Natriumphosphatlösung und der 0,1%igen Salzsäure alles phosphorsaure Natrium in das saure Salz übergieng.

Der Gehalt an Na_2HPO_4 wurde durch Abdampfen von 100 ccm der Lösung und Ueberführung des Trockenrückstandes in pyrophosphorsaures Salz bestimmt. (Zu den Versuchen gebrauchten wir Natrium phosphoricum pro analysi Merck.)

Durch vorhergehende Titrirung wurde die Säuremenge ermittelt, welche zur Bildung eines Neutralisationsniederschlags bei Abwesenheit von Phosphaten erforderlich ist. Darauf wurde zu der genau gemessenen Menge der Plasteinlösung eine ebenso bestimmte Menge der Lösung des phosphorsauren Natriums von oben angeführter Concentration gebracht, und das Gemisch wieder mit 0,1%iger HCl bis zur Bildung des Niederschlags titirt. Um so genau und gleichmässig als nur möglich den Moment der Fällung abzapassen, verfahren wir auf folgende Weise. Indem wir das Gläschen neigten, zwangen wir die Flüssigkeit, sich in einer dünnen Schicht an den Wänden derselben auszubreiten; beim Betrachten der herausfliessenden Flüssigkeit gegen das Licht war es nicht schwer, den Moment zu erhaschen, wo sich in derselben zwar sehr feine und fast durchsichtige, aber jedenfalls deutlich bemerkbare Flocken des Niederschlags bilden. Die Gleichförmigkeit der erhaltenen Resultate spricht am besten für die Genauigkeit der Bestimmung. Von der Summe der Kubikcentimeter Säure, die zur Fällung des Plasteins bei Gegenwart von Natriumphosphat angewandt worden war, wurde die Summe der Kubikcentimeter abgezogen, welche im vorhergehenden Versuche zur Neutralisation des Alkalis der Lösung verbraucht wurde. Die Differenz zeigt die Summe der Kubikcentimeter Säure, welche in Reaction mit dem phosphorsauren Natrium getreten waren. Hieraus ist es nicht schwer, das Verhältniss zwischen der Summe der Moleküle des neutralen und des sauren Phosphats zu finden, indem man in Betracht zieht, dass die Säurelösung der Phosphatlösung äquivalent ist. So z. B. ist die betreffende Differenz

im Versuche Nr. 6 = 2,9 ccm. Indem man 2,9 von 10,0 (der Summe der Kubikcentimeter der zum Versuch angewandten Natriumphosphatlösung) abzieht, erhält man 7,1. Diese letztere Zahl bezeichnet in Kubikcentimetern das Volumen der Lösung, welche nicht mit der Säure in Reaction getreten war, d. h. die ihr Phosphat in Form von neutralem Salz bewahrt hatte; umgekehrt ist das Phosphat, welches in 2,9 ccm der Lösung enthalten, in saures Salz verwandelt. Es ist klar, dass das Verhältniss 7,1 : 2,9 eben das Verhältniss der Moleküle des neutralen Phosphats zu dem sauren ausdrückt.

Wir wollen jetzt die Versuche beschreiben.

Plastein wurde in 150 ccm Wasser vertheilt und mit Hülfe von 4,5 ccm Normalätznatronlösung in Lösung gebracht. 10 ccm dieser Alkalilösung von angegebener Concentration erfordern zur Neutralisation 10,6 ccm 0,1% iger Salzsäure. (Der Alkaligehalt der Lösung = 0,102%.) Mit dieser Lösung wurden folgende Versuche angestellt.

I. 10 ccm der Plasteinlösung + 20 ccm Wasser gaben bei der Neutralisirung des Alkalis durch 0,1% HCl einen Niederschlag nach Hinzufügen von 8,5 ccm der Säure.

ccm 1% HCl	Aggregatzustand des Plasteins und äusseres Aussehen der Flüssigkeit	Reaction
1,0	Die Flüssigkeit ist vollkommen klar	} alkalisch
2,0		
3,0		
4,0		
5,0		
6,0		
7,0		
7,5	Opalescenz	} schwach alkalisch
8,0	Opalescenz wird stärker	
8,5	Niederschlag	
9,0	Niederschlag vermehrt sich	} sauer
18,5	Theilweise Auflösung des Niederschlages	
20,5	Der Niederschlag hat sich völlig gelöst	

II. Bedingungen wie in Versuch I.

ccm 1% HCl	Aggregatzustand des Plasteins und äusseres Aussehen der Flüssigkeit	Reaction
5,0	Die Flüssigkeit ist völlig klar	} alkalisch
6,0		
7,0		
7,5	Opalescenz	} sauer
8,0	Undurchsichtige Flüssigkeit	
8,5	Niederschlag	
19,2	Der Niederschlag hat sich aufgelöst	

III. 10 ccm Plasteinlösung + 10 ccm Na_2HPO_4 .

ccm 0,1 % HCl	Aggregatzustand des Plasteins und äusseres Aussehen der Flüssigkeit	Reaction	
5,0	} Die Flüssigkeit ist völlig klar	} alkalisch	
7,5			
9,0	Leichte Opalescenz		
9,5	Stärkere Opalescenz		
10,0	Die Opalescenz verstärkt sich		
11,0	Undurchsichtige Flüssigkeit		
12,0	} Niederschlag		
20,6			
29,5	Beginn der Auflösung des Niederschlages		} sauer
30,3	Stark opalisirende Flüssigkeit		
31,4	Schwach opalisirende Flüssigkeit		

Die Molekülverhältnisse von Na_2HPO_4 und NaH_2PO_4 im Momente der Niederschlagbildung = 13 : 7.

IV. Bedingungen des Versuches dieselben wie in Nr. III.

ccm 0,1 % HCl	Aggregatzustand des Plasteins und äusseres Aussehen der Flüssigkeit	Reaction
7,5	Klare Flüssigkeit	} alkalisch
8,0	} Sehr schwache Opalescenz.	
8,5		
9,0	} Die Opalescenz steigert sich	
9,5		
10,0		
10,5	} Sehr starke Opalescenz	
11,0		
11,5	Undurchsichtige Flüssigkeit	
12,8	Niederschlag	
31,7	Der Niederschlag hat sich gelöst	

Molekülverhältniss des Na_2HPO_4 : NaH_2PO_4 = 8 : 6.

V. 10 ccm Plasteinlösung + 10 ccm Na_2HPO_4 .

ccm 1,0 % HCl	Aggregatzustand des Plasteins und äusseres Aussehen der Flüssigkeit	Reaction
5,0	Klare Flüssigkeit	} alkalisch
10,0	Opalescenz	
10,5	Verstärkte Opalescenz	
11,0	Undurchsichtige Flüssigkeit	
11,6	Niederschlag	
31,1	Der Niederschlag hat sich aufgelöst	saure

Molekülverhältniss Na_2HPO_4 : NaH_2PO_4 = 69 : 31.

VI. 10 ccm Plasteinlösung + 10 ccm Na_2HPO_4 .

ccm 0,1 % HCl	Aggregatzustand des Plasteins und äusseres Aussehen der Flüssigkeit	Reaction
5,0	Die Flüssigkeit ist klar	} alkalisch
10,0	Leichte Opalescenz	
10,5	Stärkere Opalescenz	
11,0	Undurchsichtige Flüssigkeit	
11,4	Niederschlag	
31,2	Der Niederschlag hat sich gelöst	sauer

Verhältniss von $\text{Na}_2\text{HOP}_4 : \text{NaH}_2\text{OP}_4 = 71 : 29$.

Verhältnissmittel aus vier Versuchen $\text{Na}_2\text{HPO}_4 : \text{NaH}_2\text{PO}_4 = 33 : 17$,
also annähernd 2:1.

VII. 10 ccm Plasteinlösung + 20 ccm Na_2HPO_4 .

ccm 0,1 % HCl	Aggregatzustand des Plasteins und äusseres Aussehen der Flüssigkeit	Reaction
5,0	Flüssigkeit klar	} alkalisch
10,0	} Leichte Opalescenz	
10,6		
11,2	Starke Opalescenz	
11,5	Die Opalescenz verstärkt sich	
12,5	Starke Opalescenz	
13,5	Die Opalescenz wächst	
14,0	Undurchsichtige Flüssigkeit	
14,9	Niederschlag	

Verhältniss von $\text{Na}_2\text{HPO}_4 : \text{NaH}_2\text{PO}_4 = 17 : 8$.

VIII. 10 ccm Plasteinlösung + 20 ccm Na_2HPO_4 .

ccm 0,1 % HCl	Aggregatzustand des Plasteins und äusseres Aussehen der Flüssigkeit	Reaction
5,0	Flüssigkeit klar	} alkalisch
10,0	Leichte Opalescenz	
12,5	Stärkere Opalescenz	
15,0	Niederschlag	
41,3	Niederschlag gelöst	

Verhältniss von $\text{Na}_2\text{HPO}_4 : \text{NaH}_2\text{PO}_4 = 27 : 13$.

Verhältnissmittel aus zwei Versuchen von $\text{Na}_2\text{HPO}_4 : \text{NaH}_2\text{PO}_4 =$
271:129, also annähernd 2:1.

IX. 10 ccm Plasteinlösung + 30 ccm Na_2HPO_4 .

ccm 0,1% HCl	Aggregatzustand des Plasteins und äusseres Aussehen der Flüssigkeit.	Reaction
5,0	} Flüssigkeit klar	} alkalisch
7,5		
10,0	} Sehr schwache Opalescenz	
12,5		
15,0	} Schwache Opalescenz	
16,0		
17,0	} Stärkere Opalescenz	
17,5		
18,0	} Undurchsichtige Flüssigkeit	
18,5		
18,8	} Niederschlag	} sauer
50,0		

Verhältniss von $\text{Na}_2\text{HPO}_4 : \text{NaH}_2\text{PO}_4 = 197 : 103$.

X. 10 ccm Plasteinlösung + 30 ccm Na_2HPO_4 .

ccm 0,1% HCl	Aggregatzustand des Plasteins und äusseres Aussehen der Flüssigkeit	Reaction	
5,0	} Flüssigkeit klar	} alkalisch	
10,0			
15,0	} Sehr schwache Opalescenz		
15,5			
16,0	} Stärkere Opalescenz		
16,5			
17,0	} Opalescenz verstärkt sich		
17,2			
17,5	} Undurchsichtige Flüssigkeit		} sauer
51,0			

Verhältniss von $\text{Na}_2\text{HPO}_4 : \text{NaH}_2\text{PO}_4 = 21 : 9$.

Verhältnissmittel aus zwei Versuchen $\text{Na}_2\text{HPO}_4 : \text{NaH}_2\text{PO}_4 = 203 : 97$, also annähernd 2 : 1.

Die oben erklärten Facta gestatten, den Schluss zu ziehen, dass die Reaction der Gallertbildung dem Plastein als solchem eigenthümlich ist und nicht als Resultat der Behandlung des Stoffes mit Alkalien erscheint. —

Man könnte vermuthen, dass das Verhalten des Plasteins zu den Reactiven, so unähnlich es den gewöhnlichen Reactionen der Eiweisskörper ist, sich an der Zusammensetzung des Stoffes äussern würde; die Daten der Elementaranalyse werden vielleicht die Ursache der Verschiedenheit der Reactionserscheinungen des Plasteins von den allbekannten Eiweissstoffreactionen erklären.

Zur Analyse wurde der drei Mal durch Neutralisation der alkalischen Lösung gefällte Stoff auf dem Filter mit Alkohol und Aether gewaschen. Der Aether wurde durch Verreiben des zwischen Filtrirpapier leicht abgepressten Niederschlages entfernt. Hierauf wurde der fast trockene, pulverige Stoff bei 105° bis zum constanten Gewichte getrocknet.

Die Bestimmung des C und H geschah in einem Platinschiffchen in einer an beiden Enden offenen Röhre im Sauerstoffstrom. Die Röhre wurde mit einer Schicht von körnigem Kupferoxyd und mit geschmolzenem und zu Pulver verriebenem chromsaurem Bleioxyd gefüllt. Die Schicht des letzteren war bedeutend kürzer als die Kupferoxydschicht und wurde während der Verbrennung bis zum schwachen Glühen erhitzt; nach zwei Bestimmungen wurde sie durch eine neue ersetzt. Endlich wurde der vordere Theil der Röhre mit durch Methylalkoholdämpfe reducirten Kupferpfropfen gefüllt.

Der Stickstoff wurde nach Kjeldahl bestimmt, wobei als Oxydator eine Mischung von starker Schwefelsäure mit Phosphorsäure-Anhydrid und metallischem Quecksilber diente. — In die Vorlage wurde Schwefelsäure gebracht, deren jeder Kubikcentimeter 0,001345 g N. entsprach. Der Schwefelsäuregehalt war durch Wägung in Form von $BaSO_4$ bestimmt worden. Endlich diente als Indicator bei der Rücktitrirung der übriggebliebenen, nicht gebundenen Schwefelsäure weingeistiger Cochenille-Auszug. Der Schwefel wurde nach Liebig's Methode (Methode 1 a, Hammarsten¹⁾) durch Zusammenschmelzen des Stoffes in der Menge von ungefähr 1 g mit 12 g schwefelfreien Alkalis und 1,5 g ebenfalls schwefelfreien Salpeters (beide Präparate von Merck) über einer Spiritusflamme in silbernem Tiegel bestimmt. Der Niederschlag von Baryumsulfat wurde durch Zusammenschmelzen mit Soda gereinigt. —

Der zu untersuchende Stoff enthielt nur Spuren von Phosphor. Nichtsdestoweniger wurde bei der Analyse des aus Casein dargestellten Plasteins, wo die Frage nach dem Phosphorgehalt ganz besonders wichtig erschien, der Phosphor quantitativ durch Fällung des Filtrats und des Waschwassers vom $BaSO_4$ -Niederschlage mit molybdänsaurem Ammonium bestimmt. Der Niederschlag des phosphormolybdänsauren Ammoniums wurde in Ammoniak gelöst, die Phosphorsäure durch Magnesiamischung gefällt und in Form von

1) Hammarsten, Zeitschr. für physiol. Chemie Bd. 9. 1885.

pyrophosphorsaurem Magnesium bestimmt. Endlich wurde in allen Fällen, wo es die Menge des Stoffes zuließ, die Asche von ungefähr 1 g desselben durch Glühen in einem Platintiegel bestimmt. —

Der Aschengehalt betrug in keinem Falle mehr als 0,95 %. Der geringe Procentgehalt an Asche erklärt sich aus den Bedingungen der Bildung des Stoffes, welche die Möglichkeit ausschliessen, dass die am häufigsten vorkommenden Aschenbestandtheile der Proteinkörper, die phosphorsauren alkalischen Erden, in Lösung übergehen. —

Zusammensetzung des Plasteins aus Eialbumin.

Nr.	Stoff g	CO ₂ g	C %	H ₂ O g	H %	Asche g	Asche %	¹ / ₁₀ N H ₂ SO ₄ ccm	N %	BaSO ₄ g	S %
I	0,3490	0,7030	54,97	0,2325	7,70	0,0012	0,35	—	—	—	—
II	0,3610	0,7290	55,01	0,2400	7,34	0,0010	0,28	—	—	—	—
III	0,2905	—	—	—	—	—	—	32,0	14,80	—	—
IV	0,3000	—	—	—	—	—	—	32,8	14,69	—	—
V	1,0845	—	—	—	—	—	—	—	—	0,1120	1,42

Procent-Zusammensetzung des aschefreien Stoffes:

	I	II	III	IV	V	Mittel
C	55,16	55,18	—	—	—	55,17
H	7,72	7,36	—	—	—	7,54
N	—	—	14,84	14,73	—	14,78
S	—	—	—	—	1,42	1,42
O	—	—	—	—	—	20,97
						100,00

Zusammensetzung des Plasteins aus Myosin.

Nr.	Stoff g	CO ₂ g	C %	H ₂ O g	H %	¹ / ₁₀ N H ₂ SO ₄ ccm	N %	BaSO ₄ g	S %	Asche %	Asche %
I	0,2780	0,5560	54,53	0,1815	7,26	—	—	—	—	—	—
II	0,3410	0,6775	54,22	0,2102	6,86	—	—	—	—	—	—
III	0,3000	—	—	—	—	32,2	14,42	—	—	—	—
IV	0,3000	—	—	—	—	32,6	14,64	—	—	—	—
V	1,0030	—	—	—	—	—	—	0,0840	1,16	—	—
VI	0,9500	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0090	0,95

Procent-Zusammensetzung des aschefreien Stoffes.

	I	II	III	IV	V	VI	Mittel
C	55,04	54,74	—	—	—	—	54,89
H	7,33	6,93	—	—	—	—	7,13
N	—	—	14,56	14,78	—	—	14,67
S	—	—	—	—	1,17	—	1,17
O	—	—	—	—	—	—	21,14
							100,00

Zusammensetzung des Plasteins aus Casein.

Enthält keinen durch Alkalien abspaltbaren Schwefel. P-Gehalt = 0,16 %;

Nr.	Stoff	CO ₂ g	C %	H ₂ O g	H %	¹ / ₁₀ N H ₂ SO ₄ ccm	N %	BaSO ₄ g	S %	Asche g	Asche %
I	0,3460	0,7040	55,49	0,2225	7,14	—	—	—	—	—	—
II	0,2050	0,4150	55,22	—	—	—	—	—	—	—	—
III	0,3000	—	—	—	—	33,0	14,78	—	—	—	—
IV	0,3540	—	—	—	—	37,8	14,38	—	—	—	—
V	1,0080	—	—	—	—	—	—	0,0520	0,71	—	—
VI	1,0000	—	—	—	—	—	—	0,0570	0,78	—	—
VII	1,0020	—	—	—	—	—	—	—	—	0,0070	0,70

Procent-Zusammensetzung des aschefreien Stoffes.

	I	II	III	IV	V	VI	Mittel
C	55,88	55,60	—	—	—	—	55,74
H	7,19	—	—	—	—	—	7,19
N	—	—	14,88	14,48	—	—	14,68
S	—	—	—	—	0,71	0,78	0,74
O	—	—	—	—	—	—	21,65
							100,00

Die grosse Aehnlichkeit der Procentzusammensetzung der Plasteine verschiedenen Ursprungs dient als Garantie der chemischen Individualität des Stoffes. Der grösste Unterschied im C-Gehalt zwischen dem Plastein aus Myosin und dem aus Casein übersteigt nicht 0,85 %. Für krystallinische Stoffe würde ein solcher Unterschied den Schluss auf die Identität des Stoffes vielleicht nicht zulassen. In der Chemie der Eiweissstoffe wird in Folge der Schwierigkeit ihrer Isolirung ein solcher Unterschied nicht in Betracht gezogen, wovon man sehr viele Beispiele anführen kann. So enthält das Serumalbumin, gewonnen aus dem Pleura-Exsudat, 52,25 C,

während derselbe Körper, aus dem Blutserum von denselben Forschern (Hammarsten, Starke) gewonnen und nach derselben Methode analysirt, 53,05 (Unterschied 0,80%) C enthält. Fibrin gab nach Hammarsten¹⁾ eine Schwankung von 52,34—53,00% im C-Gehalt. Serumglobulin enthält nach den Analysen desselben Autors 52,32 bis 53,30% C. (Unterschied = 0,98%).

Die Schwankung im H-Gehalt der Plasteine aus verschiedenen Eiweissstoffen übersteigt nicht die Grenzen von 0,41%; der grösste Unterschied im N-Gehalt ist 0,17%; Sauerstoff gibt den grössten Unterschied von 0,62%. Kurz, auf Grund der Daten der Elementaranalyse können wir den Schluss ziehen, dass als Endproduct der Einwirkung des Labfermentes auf Peptone, gleichviel, aus welchem Eiweissstoffe letztere auch hervorgegangen sein mögen, immer ein und derselbe Stoff erscheint, welcher ausser identischen, sehr charakteristischen Reactionen eine gleichartige procentische Zusammensetzung besitzt, die sich im Mittel durch folgende Ziffern ausdrückt:

C	54,93
H	7,29
N	14,73
S	1,29
O	21,27.

Bei der Berechnung des mittleren Procent-Gehaltes an Schwefel wurde die Ziffer für Casein-Plastein absichtlich nicht berücksichtigt; dieses geschah auf Grund folgender Erwägungen.

Das nach Hammarsten's Methode gewonnene Casein enthält, wie bekannt, keinen durch Alkalien abspaltbaren Schwefel, und der Procentgehalt an Schwefel im Casein beträgt nach der Analyse Hammarsten's = 0,80%. In den Verdauungsproducten des Casein fand Chittenden im Mittel 0,94% Schwefel. Es ist klar, dass der Stoff, der sich aus den Caseosen bildet, die eine geringe Menge von S und dabei ausnahmslos in Form von sog. oxydirtem, d. h. durch Alkalien nicht abspaltbarem Schwefel enthalten, in seiner Zusammensetzung nicht mehr Schwefel enthalten kann als das ursprüngliche Material. Uebereinstimmend damit gab das Casein-Plastein für dieses 0,74% S. Die von Schützenberger und A. Gautier für die Eiweisskörper gegebenen Formeln berück-

1) Hammarsten, Pflüger's Archiv Bd. 22. 1880.

sichtigend, in welchen sich Schwefel in Zahl von 3 Atomen befindet, kann man annehmen, dass das Casein-Plastein ebenso wie das Casein 2 Atome Schwefel enthält, und dass dieser sich gänzlich in der Form von sog. oxydirtem Schwefel befindet. Andere Plasteine, von Eiweissstoffen herrührend, welche sowohl oxydirten wie auch nichtoxydirten Schwefel enthalten, schliessen in ihre Zusammensetzung 2 Atome des ersteren und 1 Atom des letzteren ein. Die analytischen Daten bestätigen diese Vermuthung. Indem wir für Myosin- und Albuminplastein 3 Atome Schwefel annehmen, berechnen wir für 2 Schwefel des Casein-Plasteins den Procentgehalt an S = 0,86; die Analyse erzielt 0,75 %. Der hohe C-Gehalt und der im Vergleich mit den Peptonisationsproducten geringe Gehalt an O gestatten, mit vollem Recht auf die wahrscheinliche Bedeutung der Reaction zu schliessen, welche bei der Fermentation der Peptone mit dem Chymosin vor sich geht. Schon a priori, sich auf die allgemein angenommene Ansicht über die Peptone, als Producte der Hydrolyse der Eiweisskörper stützend, konnte man erwarten, dass der Process des umgekehrten Ueberganges der Peptone in Eiweiss vom Ausscheiden der Elemente des Wassers begleitet sein müsse. Als analytisches Resultat dieser Wasserausscheidung erscheint eben die Erhöhung des Procentgehaltes an C und die Verminderung des Sauerstoffgehalts. —

Aber die Regeneration des Stoffes aus den Producten seiner Hydrolyse wird, ausser der Ausscheidung der Wasserelemente, noch als synthetischer Process durch die Vergrösserung des Moleküls charakterisirt. Das Verhalten des Plasteins zu den Reactionen, seine sehr leichte Fällbarkeit durch solche Salze (KNO_3 und die Carbonate der Alkalien), welche keinen einzigen Eiweisskörper, von Albumosen und Peptonen gar nicht zu reden, fällen, endlich das charakteristische Bestreben, Gallerten zu bilden, — alle diese Eigenschaften geben einen indirecten Beweis für die Vergrösserung des Moleküls beim Uebergang desselben in Plastein.

Indem wir zu der Frage zurückkehren, die wir auf dem Wege der Elementaranalyse zur Lösung gestellt hatten, nämlich ob das oben geschilderte charakteristische Verhalten des Plasteins zu den Reactiven von der Zusammensetzung des Stoffes abhängt, halten wir uns für berechtigt, dieselbe bejahend zu beantworten. Bei hohem Kohlenstoffgehalt schliesst das Plastein in der Zusammensetzung seines Moleküls eine geringe Menge Stickstoff ein. Un-

willkürlich taucht die Vermuthung auf, dass eben dieser charakteristischen Combination der in hohem Grade colloidale Charakter innewohnt, welcher dem Plastein eigen ist und sich in der leichten Fällbarkeit des Stoffes, der Bildung von gallertartigen Niederschlägen und endlich der Eigenschaft, in Gegenwart geringer Mengen Salze zu coaguliren, äussert. —

Freilich hat diese Vermuthung, obgleich sie auf natürliche Art aus den charakteristischen Daten hervorgeht, an und für sich keine grosse Beweiskraft. Wenn es uns aber gelingt, an Beispielen anderer Eiweisskörper zu zeigen, dass das oben angeführte Verhältniss des C zum N dem Plastein ähnliche qualitative Reaction bedingt, so gewinnt diese Vermuthung einen hohen Grad von Wahrscheinlichkeit.

Unter den Verdauungsproducten finden wir einen von Kühne¹⁾ beschriebenen Körper, welcher in einigen Hinsichten dem Plastein ähnliche Eigenschaften besitzt, und dessen Zusammensetzung auch der des Plasteins nahe steht: dieses ist das sog. Antialbumid und speciell das Coagulum, welches das Antialbumid bei Einwirkung des künstlichen Pankreassaftes auf dasselbe gibt. Indem Kühne das Hitzecoagulum der Serumeiweisskörper dem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure unterwarf, erhielt er unter Anderem einen unlöslichen Rückstand, den er Antialbumid benannte. Behufs Reinigung wurde der Stoff wiederholt mit künstlichem Magensaft verdaut, der nicht verdaute Rückstand in Soda gelöst und mit Säure gefällt.

Das Antialbumid ist in 1% Sodalösung und in $\frac{1}{2}$ % Aetznatronlösung leicht löslich; bei der Neutralisation der Lösung scheidet es sich vollständig in Form eines Niederschlages aus; die alkalischen Lösungen werden durch 30% NaCl gefällt. In starker sowie in verdünnter Essigsäure ist das Antialbumid vor der Auflösung in Soda nicht löslich; umgekehrt löst es sich nach der Behandlung mit Soda schon in 2% Essigsäure. In Schwefelsäure (4—5‰) ist das Albumid weder vor noch nach der Auflösung in Soda löslich. Die Lösung in 2‰ HCl verändert sich nicht beim Kochen; sie gibt bei Gegenwart von Essigsäure mit gelbem Blutlaugensalz einen reichlichen Niederschlag; Salpetersäure gibt einen voluminösen weissen Niederschlag, welcher sogar beim Erhitzen nur

1) Kühne und Chittenden, Zeitschrift für Biologie Bd. 19. 1883.

E. Pflüger, Archiv für Physiologie. Bd. 85.

theilweise im Ueberschuss löslich ist. Im letzteren Falle färbt sich der Niederschlag intensiv gelb. Millon's Reagenz färbt das Albumid roth, Kupfersulfat und Aetznatron purpurroth. Die Lösung in Barytwasser coagulirt theilweise beim Erhitzen. — Die salzsaure Lösung gibt nach der Fällung durch Soda bei weiterem Zusatz derselben bisweilen eine nicht völlig durchsichtige Flüssigkeit in Folge der Fällung der alkalischen Lösung durch das sich bei der Reaction bildende Chlornatrium . . . Die Verfasser lösten Albumid in $\frac{1}{2}$ %iger Sodalösung, versetzten die Lösung mit sehr verdünntem und vollkommen leucin- und tyrosinfreiem Auszug der Bauchspeicheldrüse und stellten das Gemisch in den Thermostat. Nach zwei Stunden hatte sich die Lösung getrübt, nach 20 Stunden war sie zu einer gallertartigen Masse erstarrt. (Zum Kochen erhitzte Lösung von Trypsin gab keine Coagulationserscheinungen.)

Auf diese Weise stellt das Antialbumid einen Körper dar, der beim Kochen mit Alkalilösung coagulirt, leicht durch minimale Mengen von NaCl aus dieser Lösung gefällt wird und mit dem Auszuge der Bauchspeicheldrüse (welche immer Chymosin enthält) Gallerte liefert. Diese Eigenschaften entsprechen vollständig denen des Plasteins und sind zu gleicher Zeit so charakteristisch, dass z. B. Kühne für das specielle Kennzeichen des Antialbumids seine Fähigkeit hält, bei der Behandlung mit dem Auszuge der Bauchspeicheldrüse zu einer gelatinösen Masse zu erstarren.

Die procentische Zusammenstellung des Stoffes gibt dasselbe charakteristische Bild wie die Zusammensetzung des Plasteins.

100 g aschefreien Antialbumids aus Serum enthalten:

C . . .	54,51
H . . .	7,27
N . . .	14,31.

Die Zusammensetzung des Coagulums desselben Körpers, erhalten durch Ausziehen mit künstlichem Pankreassaft:

C . . .	58,09
H . . .	7,60
N . . .	12,61.

Antialbumid aus Eieralbumin enthält:

C . . .	53,79
H . . .	7,08
N . . .	14,55.

Das Coagulum dieses Albumids:

C . . .	55,54
H . . .	7,30
N . . .	14,20.

Uns auf den Vergleich der Eigenschaften und der Zusammensetzung des Plasteins und des Antialbumids stützend glauben wir, dass die oben beschriebenen Reactionen des ersteren, welche theilweise auch beim Antialbumid beobachtet werden, für das Plastein als solches charakteristisch sind und von den Eigenthümlichkeiten der chemischen Zusammensetzung dieses Körpers begründet werden. —

Die Frage über die gewebebildenden, plastischen Functionen der Eiweisskörper beschäftigt schon seit langer Zeit die Physiologen. Die Fähigkeit der Eiweisskörper, aus dem löslichen in den unlöslichen Zustand überzugehen, sog. Hydrogel zu bilden, wird als chemisches Substrat der formativen Function der Eiweisskörper betrachtet. Der Grundstoff der organischen Welt, das Protoplasma, erscheint in Form von gallertartigem, durchsichtigem Hydrogel. Zu gleicher Zeit erscheint als Quelle, aus welcher die lebenden Gewebe das Material zum Bau ihrer elementaren Bestandtheile schöpfen, Blut und Lymphe, dieses „innere Medium des Organismus“, in welchem die Lebensthätigkeit aller seiner Gewebe und Organe verläuft. Das Blut enthält die Lösungen derjenigen Substanzen, welche in der Folge zur Bildung des protoplasmatischen Eiweisses dienen. „Im Blute befinden sich die Hydrosole und im Körper, den Muskeln und Geweben und besonders auf der Körperoberfläche — die Hydrogele dieser selben Stoffe. Aus dem Blute bilden sich alle Gewebe, und in diesem Falle gehen die Hydrosole in Hydrogele über. Die Abwesenheit der Krystallisation, die Fähigkeit, unter dem Einfluss dem Anscheine nach schwacher Agentien aus dem löslichen in den unlöslichen Zustand überzugehen, und auch der Gallertzustand der Hydrogele bilden die Grundeigenschaften aller Colloide. Die Leichtigkeit des Uebergangs aus dem Hydrosol in's Hydrogel ist die erste Bedingung der Entwicklung der Organismen.“ (D. Mendelejew, Основы химии, 5. Auflage, S. 529.)

Das angeführte Citat entspricht am allermeisten den Eigenschaften des Plasteins und weist gewissermaassen auf die Rolle hin, welche der beschriebene Stoff in den physiologischen Processen des lebenden Organismus zu spielen berufen ist. In der That sind unbedeutende Einwirkungen, wie z. B. die Anwesenheit von Neutral-

salzen in denjenigen Mengen, wie sie normal im Blutserum enthalten sind, und die schon längst den Namen „physiologischer“ Mengen tragen, genügend, um die Bildung eines gallertartigen Plasteincoagulums hervorzurufen, mit anderen Worten: den Uebergang dieses Körpers aus dem Hydrosol in das Hydrogel zu realisiren, d. h. die Grundbedingung zu erfüllen, welche von den Chemikern jedem gewebebildenden Process gestellt wird.

Indem wir das oben Gesagte resümiren, können wir das Plastein als einen Stoff charakterisiren, welcher kraft der ihm innewohnenden Eigenschaft, beim Vorhandensein der Bedingungen, welche sich normal im Organismus vorfinden, gallertartige Coagula zu geben, von allen Eiweisskörpern am meisten den gewebebildenden Functionen des Organismus angepasst ist.

Bevor die Eiweissstoffe der Nahrung in die Säfte des thierischen Organismus gelangen, zerfallen sie unter dem Einflusse der Verdauungsfermente in eine Reihe von Producten, welche noch den allgemeinen Eiweisscharakter behalten, aber zugleich eine Vereinfachung der Zusammensetzung erleiden, welche in der Verminderung der Molekulargrösse sich kundgibt. Aber unmittelbar nach der Spaltung des Eiweissmoleküls beginnt ein umgekehrter Process der Synthese von Eiweiss aus den Albumosen und Peptonen. Die beiden genannten Reactionen verlaufen im Innern des Verdauungsanals neben einander. Der colossale Aufwand von lebendigen Kräften, welche vom Organismus bei den Verdauungsprocessen geleistet werden, scheint also keine physiologische Bedeutung zu haben, da die Wirkung eines Fermentes alle die Resultate des anderen vernichtet und zum Schluss des Verdauungsactes Alles zu demjenigen Zustande zurückkehrt, welcher vor der Nahrungsaufnahme da war. Anhydrideiweiss wird nach einer Reihe von Metamorphosen wieder zum Anhydrideiweiss, und die ganze Summe sehr verwickelter Reactionen, welche innerhalb des Verdauungsapparates statthatte, kann sogar nicht zum Erleichtern der Aufsaugung dienen, da auch die nativen Eiweissstoffe in einem sehr ansehnlichen Maasse resorbirt werden können. Die „physikalische“ Theorie der Verdauung von Funke, welche bekanntlich den Zweck der Verdauungsprocesse in der Bildung von leicht diffusiblen Stoffen erblickte, kann nach den Versuchen über die Resorption von nicht peptonisirtem Eiweisse (Bauer und Voit,

Eichhorst, Czerny und Zatschenberger, Friedländer) und besonders nach den bahnbrechenden Untersuchungen über die Darmresorption, welche von der Breslauer Schule angestellt worden sind, gewiss nicht mehr als wissenschaftlich betrachtet werden und wenn sie noch hie und da in den Lehrbüchern angeführt wird, so geschieht dies wahrscheinlich wegen der Ermangelung an einer anderen Theorie der Verdauungsprocesse.

Wir sind gewöhnt, in allerkleinsten Functionen des Organismus, in den winzigsten Details des Körperbaues den Stempel von weitgeführter Zweckmässigkeit zu erblicken. Unzweckmässigkeit eines so capitalen Processes, wie die Verdauung von Eiweissstoffen es ist, erscheint also ganz unmöglich, unverständlich, nonsens. Somit ersteht die theoretische Aufgabe, den physiologischen Sinn von der Peptonisation und Regeneration des Eiweisses aus den Peptonen zu erforschen und die beiden Processe aus den Bedürfnissen des Organismus abzuleiten.

Wenden wir uns zuerst den Bedingungen der Ernährung von einem neugeborenen Thiere zu, welches eine sehr einfache und so zu sagen „physiologische“ Nahrung — die Muttermilch — erhält. Der hauptsächlichste Eiweissbestandtheil der Milch — das Casein — wird nach den Versuchen von Eichhorst beinahe gänzlich resorbirt, ohne Mitwirkung von jeglichen proteolytischen Fermenten, also gewiss unverändert. Mit anderen Worten: von Seiten der physikalischen Bedingungen des thierischen Organismus gibt es kein Hinderniss für den Uebergang des unveränderten Caseins in Säfte und Gewebe des Körpers. Doch wenn das Casein thatsächlich in dem Zustande resorbirt würde, in welchem es in der Milch existirt, könnte es den nutritiven und formativen Zwecken des Organismus gar nicht dienen, da es, in die Blutbahn eingeführt, quantitativ durch die Nieren ausgeschieden wird. Der thierische Organismus verhält sich zu dem unveränderten Casein wie zu einem Fremdstoffe, und die winzigsten Quantitäten davon werden durch jenes Organ ausgeschieden, dessen Aufgabe überhaupt in der Wegräumung von qualitativ oder quantitativ fremden Stoffen besteht. Um von dem Organismus assimilirt zu werden, soll das Casein eine Veränderung seiner Eigenschaften, also eine chemische Umwandlung erleiden. Es ist klar, dass man nicht in den physikalischen Eigenschaften des Käsestoffes, sondern in seiner chemischen Natur die Nothwendigkeit der Verdauungsmetamorphose suchen soll.

Nehmen wir ein anderes Beispiel. Es ist aus den Arbeiten von Tegart, Brown-Séguard, Becquerel et Barreswill, Hammond, Bernard, Lehmann, Ferret, Landois, von Noorden und Stewart bekannt, dass nach einer übertriebenen Aufnahme von Eiereiweiss ein Theil davon durch die Nieren ausgeschieden wird; man beobachtet so zu sagen alimentäre Albuminurie. In diesem Falle existirt nicht nur eine theoretische Möglichkeit der Resorption von unverändertem Albumin, sondern auch thatsächlich ging es in's Blut über, und zwar bei ganz normalen (nur etwas forcirten) Bedingungen, d. h. bei der Aufnahme per os.

Derjenige Theil des aufgenommenen Eiweisses, welcher dem modificirenden Einflusse der Verdauungssäfte unterlag, wurde assimiliert; den Rest, welcher wegen der zu grossen Quantität der Nahrung und in Folge dessen wegen der so zu sagen „functionellen Insufficienz“ des Verdauungsapparates unverändert blieb und in diesem unveränderten Zustande die Darmwand passirte, vermochte der Organismus nicht zu assimiliren. Hier weisen die Bedingungen des Versuches ganz ausdrücklich darauf hin, dass das Nahrungseiweiss, um zu dem Körperbestandtheil zu werden, noch im Verdauungstracte in eine neue Form übergeführt werden soll, welche den normalen Verhältnissen des Organismus entspricht. Diese Versuche postuliren also eine chemische Umwandlung des Nahrungseiweisses. Die Betrachtung allgemeiner Lebensbedingungen des thierischen Organismus postulirt weiter, dass die definitive Form, in welche das Nahrungseiweiss verwandelt wird, immer eine und dieselbe bleiben soll. Es ist allbekannt, dass die qualitative Zusammensetzung des Eiweissvorrathes des Blutes unverändert bleibt, mögen die Eiweissstoffe der Nahrung auch so verschieden und mannigfaltig sein. Der Organismus muss folglich gewisse Vorrichtungen haben, welche es gestatten, aus verschiedenen Eiweissformen ein und dasselbe Eiweissmolekül zu erzeugen.

Wenn man die grosse Mannigfaltigkeit nur der echten Eiweisskörper (ohne über die Proteïde zu reden) im Auge hält, kann man schon theoretisch voraussagen, dass solche Umwandlung von verschiedenen Eiweissstoffen der Nahrung in einen und denselben Körper ohne verhältnissmässig tiefe Spaltung des Eiweissmoleküls unmöglich ist. Die Erfahrung zeigt bekanntlich, dass der Assimilationsprocess mit der Spaltung der Eiweissstoffe in eine Reihe von einfachen Körpern,

welche noch den allgemeinen chemischen Charakter der Eiweisssubstanzen zeigen, beginnt: es vollführt sich die Peptonisation.

Aus der Zusammenstellung der Eigenschaften und der Zusammensetzung der Albumosen und Peptone verschiedener Herkunft kann man den Schluss ziehen, dass die Producte der Hydrolyse von Eiweisskörpern identisch sind, mögen sie auch von verschiedenen Eiweissstoffen abstammen¹⁾. Indem das Labferment auf diese Producte einwirkt, kann es ein und dasselbe Plastein aus verschiedenen Eiweisskörpern qualitativ erzeugen. Somit erscheint am Ende von zwei nach einander folgenden Fermentationen, einer proteolytischen und einer proteosynthetischen (*sit venia verbo!*), ein und dasselbe Product, mag das Ausgangsmaterial so verschieden sein, wie es will.

Die Peptonisation kann also als Vorbereitungsstufe zum Prozesse der Eiweissregeneration betrachtet werden; durch die Peptonisation werden verschiedene Eiweisskörper in eine Reihe identischer Producte zerlegt, und so wird die nothwendige Bedingung für die darauffolgende Assimilation erfüllt. Nur aus diesen immer constanten Fragmenten des Eiweissmoleküls kann ein neues Anhydrideiweiss gebildet werden, welches immer dieselben Eigenschaften behält, unabhängig von der Zusammensetzung der Nahrung, und so wird die Hauptbedingung für die Unveränderlichkeit des Blutes erfüllt. Nicht in der Wegschaffung der physikalischen Hindernisse für die Aufsaugung der Colloide, sondern in der Erzeugung chemischer Bedingungen, welche es gestatten, aus verschiedenem Eiweissvorrath der Nahrung ein und dasselbe Eiweissmolekül zu erzeugen, und so dem Blute und den Geweben unabhängig von der Nahrung eine constante Zusammensetzung gewähren, soll man die physiologische Bedeutung der Verdauungsproteolyse suchen. Die physikalischen Veränderungen der Eiweissstoffe im Verdauungstracte sind nur Nebenerscheinungen des chemischen Processes, nur der äussere Ausdruck der dabei stattfindenden chemischen Umwandlungen.

1) Wegen der Raumersparniss will ich die Belege für den eben ausgesprochenen Satz nicht anführen; übrigens sind viele Autoritäten in dieser Hinsicht einverstanden, so z. B. W. Kühne (siehe seine Arbeiten über Albumosen).