(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin.)

Ueber das Verhalten des Caseïns zu Pepsinsalzsäure.

Von

Prof. **E. Salkowski.**

Vor etwa $2\frac{1}{2}$ Jahren habe ich angegeben ¹⁾, dass bei der Verdauung des Caseïns durch künstlichen Magensaft, nicht, wie man bis dahin annahm, der gesammte Phosphorgehalt des Caseïns in dem abgespaltenen, sich unlöslich ausscheidenden Paranuclein oder Pseudonuclein enthalten ist, sondern nur etwa 15%, während der bei Weitem grössere Antheil sich in der Verdauungslösung befindet, ferner dass unter besonders günstigen Umständen das Paranuclein völlig verschwinden kann, sodass dann also der ganze Phosphorgehalt in Lösung geht.

Bezüglich des Phosphorgehaltes der Lösung wurde festgestellt, dass der Phosphor weder als Orthophosphorsäure, noch als Metaphosphorsäure in derselben enthalten sei, sondern in organischer Form und zwar durch Einwirkung von Baryumcarbonat als Baryumphosphat abspaltbar, also als gebundene Phosphorsäure.

In einer zweiten in Gemeinschaft mit M. Hahn ²⁾ ausgeführten Arbeit wurden diese Ergebnisse bestätigt und erweitert.

Bezüglich der Frage, wovon es abhängt, ein wie grosser Antheil des Phosphors in den löslichen Verdauungsproducten enthalten sei, ein wie grosser in den unlöslichen, gelangten wir durch planmässig ausgeführte Versuche (l. c. S. 238) zu dem allgemeinen Satz: „Bei der Verdauung des Caseïns durch den Magensaft geht der grössere Theil des Phosphors in die löslichen Verdauungsproducte über, der kleinere bleibt bei dem unlöslichen, dem sog. Paranuclein. Je ungünstiger die Verhältnisse der Verdauung sind, desto grösser ist die Quantität des Paranucleins, desto grösser

1) Centralbl. f. d. med. W. 1893. Nr. 23 und 28.

2) Dieses Archiv Bd. 59. S. 225.

also auch die Quantität des Phosphors, welche auf die unlöslichen Producte entfällt.“

Als entscheidend für die grössere oder geringere Begünstigung der Verdauung hat sich dabei das Verhältniss zwischen der Quantität des Caseïns und der pepsinhaltigen Salzsäure herausgestellt: je grösser die Quantität der Pepsinsalzsäure gegenüber dem Caseïn, desto vollständiger wurde dieses verdaut. Dass das Caseïn unter besonders günstigen Bedingungen vollständig, oder so gut wie vollständig, in Lösung gehen könne, ist in der citirten Arbeit nicht aufs Neue ausgesprochen worden; aus dieser Unterlassung folgt natürlich nicht, dass diese meine frühere Angabe nun fallengelassen wäre; a priori ist es eine in hohem Grade wahrscheinliche Consequenz, dass, da die Quantität des ungelösten Antheils bei zunehmender Verbesserung der Bedingungen der Verdauung fortdauernd abnimmt, es möglich sein müsse, auch den letzten Antheil zur Auflösung zu bringen, es handelt sich aber nicht um eine von mir gezogene Schlussfolgerung, sondern um positive, wiederholt gemachte Beobachtungen.

Ich reproducire hier diesen Thatbestand zum Theil deshalb, weil er in der Literatur nicht genügend berücksichtigt worden ist, zum Theil deshalb, weil diese Ergebnisse von anderen Seiten angefochten worden sind.

Was den ersten Punkt betrifft, so bin ich z. B. nicht ganz damit einverstanden, wenn Hammarsten in seinem Lehrbuch der physiologischen Chemie, 3. Aufl., S. 384 sagt:

„Bei der Verdauung des Caseïns mit Pepsinchlorwasserstoffsäure spaltet sich Pseudonuclein ab. Die Menge des abgespaltenen Pseudonucleins schwankt, wie Moraczewski gezeigt hat, je nach der Versuchsanordnung sehr bedeutend, von 1,29 bis 21,1 % des verdauten Caseïns“,

und dann in den Nachträgen S. 645 hinzufügt:

Salkowski und Hahn haben ebenso wie Moraczewski gefunden, dass die Menge des bei der Caseïnverdauung abgespaltenen Pseudonucleins eine sehr schwankende ist“.

Damit scheint mir der oben angegebene Thatbestand nicht erschöpfend wiedergegeben zu sein. Das, worauf wir — Hahn und ich — in unserer gemeinschaftlichen Arbeit Werth gelegt haben, und worauf meiner Ansicht nach auch Werth zu legen ist, ist der Nachweis, dass die Schwankungen keine regel-

losen sind, wie es nach den Versuchen von v. Moraczewski vielleicht scheinen könnte; sondern gesetzmässige, dass die Quantität des Paranucleins oder Pseudonucleins — und damit des im ungelösten Antheil enthaltenen Phosphors — um so kleiner ist, je günstiger die Bedingungen der Verdauung, um so grösser, je ungünstiger, ferner der Nachweis, dass als entscheidendes Moment für grössere oder geringere Begünstigung hauptsächlich das Zahlenverhältniss zwischen Casein und verdauender Flüssigkeit anzusehen ist.

Dieser Thatbestand kommt in dem Citat von Hammarsten nicht zum Ausdruck, und hätte, wie mir scheint, wohl zum Ausdruck kommen können, da diese Ausführungen kaum mehr Raum beansprucht hätten, wie die blosser Angabe des Bestehens grosser Schwankungen. Ferner könnte es nach Hammarsten's Ausführungen scheinen, als ob unsere Untersuchungen Nachuntersuchungen derjenigen von v. Moraczewski seien und seine Ergebnisse bestätigt hätten, während sie von diesem ganz unabhängig sind und wir zu bestimmteren Schlussfolgerungen gelangt sind als Moraczewski.

Sebelien¹⁾, welcher aus einer Versuchsreihe einen ähnlichen Schluss zieht wie wir, uns aber nicht citirt, sondern v. Moraczewski, mag die Arbeit von Hahn und mir nicht gekannt haben.

Meine Angaben über die vollständige Lösung des Caseins in Pepsinsalzsäure haben Widerspruch erfahren zunächst von W. v. Moraczewski, welcher selbst bei seinen Versuchen nie eine vollständige Lösung gesehen hat und sich ausserdem auf frühere Angaben von Szontagh, sowie auf eine zur Zeit seiner Publication noch nicht veröffentlichte, in Drechsel's Laboratorium ausgeführte Arbeit von Wróblewski bezieht.

Was die eigenen Versuche von Moraczewski betrifft, so ist in der Mehrzahl derselben die Quantität des ungelösten Paranucleins allerdings nicht unerheblich, aber es kommen doch auch einige recht niedrige Zahlen für dasselbe vor. So betrug in dem ersten Versuch seiner dritten Versuchsreihe das Paranuclein nur 3,6 % des Caseins, ja in dem ersten Versuch der vierten Reihe

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. XX. S. 446.

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. XX. S. 28.

sogar nur 1,29 %. Das kommt doch einer vollständigen Lösung sehr nahe! Ohne Zweifel wird man jeden Eiweisskörper, von welchem bei der Verdauung mit künstlichem Magensaft 98,71 % in Lösung gehen, als so gut wie vollständig verdaulich bezeichnen. Warum sollte für das Casein allein diese Anschauung keine Berechtigung haben? Ausserdem kommt noch in Betracht, dass an dieser unbedeutenden Quantität von ungelöstem Rückstand ein wenig, trotz Waschen mit Aether noch anhaftendes Fett oder andere Verunreinigungen betheiligt sein können.

Sehen wir nun, woran es liegt, dass in diesem einen Versuch eine so kleine Quantität unlöslichen Rückstandes blieb, in allen anderen erheblich mehr, so fällt sofort auf, dass in diesem Versuch die Verhältnisse der Verdauung ganz besonders günstige waren. In diesem Versuch — derselbe ist im Text auf S. 41 als Versuch A der vierten Versuchsreihe bezeichnet — wurden angewendet 5,2725 gr Casein in 750 ccm verdünnter Salzsäure gelöst. Es ist an dieser Stelle nicht gesagt, wie stark die angewendete Salzsäure war, vielmehr von einer „Caseinsäurelösung“ gesprochen, doch lässt sich vermuthen, dass die Salzsäure 0,1—0,2 % iger war. Diese Lösung wurde mit 15 ccm 10 % iger Pepsinlösung = 1,5 gr Pepsin¹⁾ versetzt. Das Gemisch wurde 5 Tage verdaut. Das unlösliche Paranuclein wog 0,0695 gr = 1,293 % des Caseins. Nur noch ein Versuch ist mit derselben Mischung angestellt, doch kommt dieser weniger in Betracht, da er nur einen Tag dauerte; es bleibt aber sehr bemerkenswerth, dass trotz der kurzen Dauer der Digestion der unlösliche Rückstand nur 4,64 % des Caseins betrug, während derselbe in den anderen Versuchen v. M.'s im Allgemeinen weit höher ist. Die günstigeren Bedingungen dieses einen Versuches sind darin zu suchen, dass in demselben das Verhältniss zwischen der Quantität des Caseins und der Pepsinsalzsäure ein sehr weites war, nämlich 1 : 143, während dasselbe in den Versuchen III und IV derselben Reihe 1 : 69 betrug, in der Reihe V etwa 1 : 30, in der Reihe I und II etwa 1 : 25, in der Reihe III sogar 1 : 16,7. v. M. hat diesen Einfluss auch nicht übersehen können; er leitet die bessere Verdauung allerdings von

1) So heisst es im Text l. c. S. 41. In der kleinen Tabelle auf derselben Seite, sowie in der Uebersichtstabelle auf S. 50 ist dagegen im Widerspruch damit 1 gr Pepsin angegeben.

der grösseren Verdünnung der Caseïnlösung ab, indessen deckt sich diese im vorliegenden Falle mit der grösseren Relation zwischen Caseïn und Pepsinsalzsäure.

Da man nun aber immer noch sagen könnte, dass bei einem Rest von 1,29 % des angewendeten Caseïns nicht von einer vollständigen Lösung gesprochen werden könne, ausserdem in den meisten bekannt gemachten Versuchen sehr viel mehr ungelöst geblieben ist, so habe ich es nicht für überflüssig gehalten, die Bedingungen, unter denen mit Sicherheit auf eine vollständige Lösung des Caseïns gerechnet werden kann, näher festzusetzen. Als ich den grössten Theil der dahin abzielenden Versuche bereits angestellt hatte, gelangte die Dissertation von A. Wróblewski „Beiträge zur Kenntnis des Frauencaseïns und seine Unterschiede von Kuhcaseïn“, Bern 1894, welche sich u. A. auch mit der Frage der Lösung des Caseïns in Pepsinsalzsäure beschäftigt, zu meiner Kenntniss. Ehe ich auf dieselbe eingehe, möchte ich meine eigenen Versuche mittheilen, deren Veröffentlichung sich aus äusseren Gründen verzögert hat.

Zur Vermeidung von Wiederholungen seien mir zunächst einige allgemeine Bemerkungen über die Anstellung der Versuche gestattet.

1) Das angewendete Caseïn stammte aus der Schering'schen chemischen Fabrik in Berlin. Dasselbe enthält 10,83 % Wasser, 0,35 % Fett, 1,45 % Asche, somit 87,37 % Reincaseïn. Für die Berechnungen ist, wo sie sich auf Reincaseïn beziehen, der abgerundete Werth von 87 % zu Grunde gelegt.

2) Die verdauende Flüssigkeit wurde stets aus sogenanntem 100 %igem Pepsin von Finzelberg in Andernach a. Rh. hergestellt (in einem Fall diente dazu das sog. Pepsinum absolutum aus derselben Bezugsquelle). Der in dem Präparat enthaltene Milhzucker wurde vor Herstellung der verdauenden Flüssigkeit durch Auswaschen entfernt, die Zahlenangaben beziehen sich jedoch auf das Pepsin sammt seinem Milhzuckergehalt. Zu allen in dieser Arbeit mitgetheilten Versuchen dienten Antheile desselben Vorraths.

3) Als Verdauungssalzsäure ist stets eine solche bezeichnet, welche durch Vermischen von 10 ccm Salzsäure von 1,124 spec.

1) 1,735 gr verloren beim Trocknen 0,1878 gr = 10,83 % und hinterliessen 0,023 Asche = 1,45 % — 3,5308 gr gaben 0,0125 Fett = 0,35 %.

Gewicht (officinelle Salzsäure) und Auffüllen zum Volum von 1 Liter hergestellt war. Dieselbe enthält 0,281 % HCl (100 ccm enthalten 0,281 gr HCl).

4) Das ausgewaschene Pepsin wurde mit Verdauungssalzsäure vom Filter gespritzt. Die Art der Herstellung der Pepsinlösung brachte es mit sich, dass stets etwas mehr Pepsin abgewogen werden musste, als im Versuch zur Anwendung kam. Sollte z. B. eine Lösung von 1 gr Pepsin in 500 ccm Verdauungssalzsäure angewendet werden, so wurden 1,2 gr Pepsin abgewogen, in einer Schale mit viel Wasser gut durchgerührt, aufs Filter gebracht und so lange gewaschen, bis im Waschwasser nicht die leiseste Spur von Milchzucker-Reaction mehr zu erhalten war, dann mit Verdauungssalzsäure in einen Kolben gespritzt, weitere Verdauungssalzsäure hinzugefügt (etwa 300—400 ccm), bis zum nächsten Tage (21 bis 24 Stunden) unter vielfachem Schütteln bei Zimmertemperatur stehen gelassen, dann mit Verdauungssalzsäure auf 600 ccm gebracht, durch ein trockenes Filter filtrirt und vom Filtrat 500 ccm abgemessen.

5) Die Digestion geschah in Glasstöpselflaschen im Thermostaten bei 39—40°.

Versuch I.

2 gr Casein = 1,74 Reincasein wurden mit 500 ccm Pepsinsalzsäure, entsprechend 1 gr Pepsin angesetzt. Am nächsten Tage (nach 20 Stunden) war nur äusserst wenig Ungelöstes zu bemerken. Am nächsten Tage, an welchem sich das Aussehen der Flüssigkeit nicht verändert hatte, durch ein getrocknetes gewogenes Filter filtrirt, völlig d. h. bis zum Verschwinden der Reaction mit AgNO_3 im Waschwasser ausgewaschen, dann mit Alkohol und Aether, getrocknet, gewogen. Rückstand 0,0316 gr; davon 0,0018 Asche, also 0,0298 organischer Rückstand = 1,71 %.

Versuch II.

5 gr Casein = 4,35 Reincasein mit 1 Liter Pepsinsalzsäure — 2 gr Pepsinum absolutum entsprechend — 2 Tage digerirt, filtrirt. Der Rückstand beträgt 0,0720 gr; davon 0,0022 Asche, somit 0,0698 organischer Rückstand = 1,60 %.

Versuch III.

2 gr Casein = 1,74 Reincasein mit 50 ccm Wasser und 3 ccm Halbnormallauge verrieben. Die nicht ganz klare und noch einige Körnchen ungelöstes Casein enthaltende Lösung wird mit 1 L. Pepsinsalzsäure entsprechend 2 gr Pepsin gemischt, digerirt. Nach 20 Stunden stellt die Lösung eine wenig

trübe Flüssigkeit mit einzelnen Körnchen und Flocken dar. Ungelöster Rückstand 0,0190 gr, davon Asche 0,0012, somit organischer Rückstand 0,0178 gr = 1,02 %. Das gesammte Filtrat wird neutralisirt und eingedampft, auf 50 ccm gebracht. Die erhaltene Lösung trübt sich auf Essigsäurezusatz nicht; sie bleibt beim Kochen sowohl für sich, als nach Zusatz von Essigsäure unverändert, sie giebt starke rothe Biuretreaction.

Die Beobachtungen, die ich in den vorstehend angeführten Versuchen gemacht hatte — sowie in früheren nicht für den speciellen Zweck angestellten und hier nicht angeführten — liessen es mir sehr wahrscheinlich erscheinen, dass das käufliche Casein sich nur darum nicht völlig löst, weil in dem trockenen Präparat sich einzelne sehr harte und resistente Körnchen befanden. Zu den folgenden Versuchen wurde daher das Casein nicht allein in alkalisirtem Wasser gelöst, sondern die Lösung ausserdem auch noch filtrirt.

Versuch IV.

4 gr Casein in ca. 100 Wasser unter Zusatz von 6 ccm Halbnormallauge gelöst. Die Lösung auf 200 ccm aufgefüllt, filtrirt. Vom Filtrat 100 ccm = 2 gr Casein = 1,74 Reincasein mit 400 Verdauungssalzsäure und 500 Pepsinsalzsäure, entsprechend 2 gr Pepsin, digerirt. Am nächsten Tage erscheint die Lösung so gut wie klar, die geringe vorhandene Trübung verschwindet auch bei weiterer noch 4 Tage dauernder Digestion nicht. Rückstand auf dem Filter nicht sichtbar, nicht wägbar (das Filter hat an Gewicht abgenommen: Gewicht mit Uhrgläsern vorher 20,4143, nachher 20,4125).

Das Filtrat neutralisirt eingedampft, auf 50 ccm gebracht. Die Lösung giebt mit Essigsäure eine ganz minimale Trübung, starke rothe Biuretreaction.

Versuch V.

Wiederholung von IV. Nach 20 stündiger Digestion einige Flöckchen am Boden der Flasche. Der Bodensatz wird aufgeschüttelt, die leicht trübe Flüssigkeit ändert sich bei weiterer Digestion nicht. Nach im Ganzen 46 Stunden filtrirt. Das Filtrat ist fast völlig klar. Die geringe Trübung des Filtrats verschwindet beim Schütteln einer Probe mit Aether vollständig, besteht also aus Fett. Auf dem Filter ist nach dem Waschen mit Alkohol und Aether ein Rückstand nicht sichtbar. Das Filter hat um 0,0022 gr abgenommen.

Das Filtrat, ebenso behandelt, wie in IV, giebt mit Essigsäure weder Trübung noch Niederschlag, starke rothe Biuretreaction.

Versuch VI.

Wiederholung von V resp. IV. Dauer der Digestion 24 Stunden. Auf dem Filter ist nach dem Auswaschen mit Alkohol und Aether kein Rück-

stand sichtbar. Das Gewicht des Filters hat um 0,0016 abgenommen. Das ganz leicht trübe Filtrat klärt sich beim Schütteln einer Probe mit Aether völlig. Bei neutraler Reaction auf 50 ccm eingedampft, verhielt es sich so, wie in V.

Versuch VII.

4 gr Casein mit einer Lösung von 0,5 gr Dinatriumphosphat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 12\text{H}_2\text{O}$) in 100 Wasser erwärmt, die Lösung nach dem Erkalten auf 200 ccm aufgefüllt, filtrirt. Vom Filtrat 100 ccm — 2 gr Casein = 1,74 Reincasein, 400 ccm Verdauungssalzsäure und 500 Pepsinsalzsäure, entsprechend 2 gr Pepsin, 48 Stunden digerirt. Rückstand auf dem Filter nicht sichtbar, das Filter hat 0,0024 gr an Gewicht abgenommen.

Das Filtrat, neutralisirt, auf 50 ccm eingedampft, giebt mit Essigsäure keine Trübung, starke rothe Biuretreaction.

Man kann also Casein mit Sicherheit binnen 24—48 Stunden zur völligen Verdauung bringen, wenn man die in den Versuchen IV, V, VI, VII angegebenen Verhältnisse innehält. Was unter diesen Verhältnissen ungelöst bleibt, ist nichts, als Spuren von Fett, welche dem käuflichen Casein anhaften und äusserst schwer, wenn überhaupt, durch Aether oder andere Lösungsmittel vollständig zu entfernen sind. Die unter den angegebenen Verhältnissen bereitete Lösung enthält kein unverändertes Casein oder höchstens minimale Spuren, vielmehr Albumosen, welche durch ihre intensive Rothfärbung bei Anstellung der Biureprobe ausgezeichnet sind.

Sehr auffällig ist es, dass die Filter regelmässig etwas leichter geworden sind. Daran mag die Abgabe von in Aether und Alkohol löslicher Substanz seitens des Filters — obwohl von einer solchen nichts bekannt ist — und die mechanische Ablösung von Papierfasern (es wurde das sehr schnell filtrirende, aber auch sehr lockere Papier von Schleicher und Schüll Nr. 589 benutzt) in gleicher Weise betheiligt sein.

Man könnte nun vielleicht noch einwenden, dass dieser Gewichtsverlust des Filters auch eine geringe Gewichtszunahme durch einen unlöslichen Rückstand verdecken könne. Gegen diese Annahme ist aber doch einzuwenden, dass, wie bereits bemerkt, auf dem Filter nach dem Auswaschen mit Alkohol und Aether durchaus kein Rückstand zu bemerken war.

Ich verkenne nun keineswegs, dass das in den beschriebenen Versuchen eingehaltene Verhältniss von Casein : Pepsinsalzsäure = 1 : 500 ¹⁾ ausserhalb der üblichen Versuchsanordnung liegt, gewisser-

1) Auf das wasserhaltige Casein bezogen.

massen ein abnormes ist. Es fragte sich, ob vollständige Lösung auch zu erreichen sei, wenn die Quantität der Pepsinsalzsäure im Verhältniss zum Caseïn minder abnorm gross gewählt wird.

Versuch VIII.

12 gr Caseïn wurden mit Hilfe von 18 ccm Halbnormallauge zum Volumen von 300 ccm gelöst, filtrirt. Vom Filtrat wurden 100 ccm = 4 gr Caseïn = 3,48 gr Reincaseïn zum Versuch verwendet, zu diesen 100 ccm wurde hinzugesetzt 400 ccm Verdauungssalzsäure und 500 Pepsinsalzsäure entsprechend 2 gr Pepsin; die Mischung, in welche also das Verhältniss von Caseïn zu Pepsinsalzsäure = 1:250 war, wurde 46 Stunden digerirt. Sie war nach einigen Stunden gallertig, nach 46 Stunden war nur ein ganz geringer flockiger Bodensatz vorhanden. Die Flüssigkeit wurde durch ein gewogenes Filter filtrirt: sie filtrirte, abgesehen von den letzten Antheilen, sehr schnell, das Filtrat war jedoch nicht ganz klar. Das gesammte Filtrat wurde — portionsweise — mit Aether durchgeschüttelt, der klare Aether abgegossen, die wässerige Flüssigkeit nochmals durch dasselbe Filter filtrirt, dann wie üblich weiter verfahren. Die Gewichtszunahme des Filters betrug 0,034 gr, es waren somit 0,97 %¹⁾ des Caseïns nicht gelöst.

Sämmtliche Filtrate wurden nach genauer Neutralisirung eingedampft, auf 100 ccm aufgefüllt; die Lösung gab mit Essigsäure keine Trübung, starke rothe Biuretreaction.

Versuch IX.

ist eine genaue Wiederholung von Versuch VIII, zu welcher weitere 100 ccm der oben angegebenen Caseïnlösung verwendet wurden. Die Filtration ging dieses Mal sehr zögernd, trotzdem die Bedingungen anscheinend genau dieselben waren. Der unlösliche Rückstand betrug 0,030 gr = 0,86 %.

Das eingedampfte Filtrat verhält sich wie in VIII. Es ist also nur bis auf etwa 1 % Rückstand vollständige Lösung zu erwarten, wenn das Verhältniss zwischen Caseïn (lufttrocken mit 87 % Reincaseïn) und Pepsinsalzsäure = 1:250 ist. In den folgenden Versuchen wurde dasselbe auf 1:125 herabgesetzt.

Versuch X.

12 gr Caseïn mit Hilfe von 18 ccm Halbnormallauge zum Volumen von 300 ccm gelöst, filtrirt. Vom Filtrat wurden 100 ccm = 4 gr Caseïn = 3,48 Reincaseïn angewendet. Dazu 150 ccm Verdauungssalzsäure, 1 ccm reine Salzsäure (von 1,124 spc. Gew.) und 250 Pepsinsalzsäure entsprechend 1 gr Pepsin. Der Zusatz von 1 ccm concentrirter Salzsäure, welche also 100 ccm Verdauungssalzsäure entspricht, sollte dazu dienen, den Einfluss des Wassergehaltes der alkalischen Lösung auszugleichen, während der Einfluss der Natronlauge

1) Stets bezogen auf Reincaseïn.

(6 ccm Halbnormallauge, welche 38,97 Verdauungssalzsäure entsprechen) allerdings unausgeglichen blieb. Das Volum der Flüssigkeit betrug also 500 ccm, das Verhältniss zwischen Casein und Pepsinsalzsäure 1:125.

Nach 46 stündiger Digestion wurde die Flüssigkeit verarbeitet. Abweichend von dem bisherigen Verfahren wurde die ganze Lösung sammt dem darin enthaltenen Niederschlag vor der Filtration mit Aether durchgeschüttelt, dann filtrirt. Man erreicht durch dieses einfachere Verfahren von vornherein absolut klare Filtrate.

Der ungelöste Rückstand betrug 0,0827 gr = 2,38 %.

Versuch XI

ist eine genaue Wiederholung von X. Die Digestion beider Mischungen geschah gleichzeitig. Der ungelöste Rückstand betrug 0,072 gr = 2,07 %.

Wie kommt es nun, dass Wróblewski in seinen Versuchen eine vollständige Auflösung des Caseins niemals hat beobachten können? Für die Mehrzahl seiner Versuche ergibt sich die Erklärung aus der im Vorstehenden ermittelten Relation, welche zwischen Casein und Pepsinsalzsäure bestehen muss, wenn die Auflösung vollständig sein soll.

Wróblewski führt in seiner Dissertation, als zur Prüfung meiner Angabe über die vollständige Löslichkeit des Caseins in Pepsinsalzsäure angestellt 2 Versuchsreihen und 2 Einzelversuche an. Sehen wir zunächst von der ersten Versuchsreihe ab. In der zweiten Versuchsreihe l. c. S. 40 wurden jedesmal 0,6 gr Casein mit 24 ccm Verdauungssalzsäure und wechselnden Mengen Pepsin digerirt, das Verhältniss zwischen Casein und Pepsinsalzsäure war in allen Versuchen 1:40, eine vollständige Lösung also unter keinen Umständen zu erwarten. In dem ersten der beiden auf S. 41 beschriebenen Einzelversuche scheint das Verhältniss zwischen Casein und Pepsinsalzsäure, soweit man dies aus der Beschreibung ersehen kann, 1:100 gewesen zu sein, in dem zweiten war es 1:40, in beiden Fällen war also eine vollständige Lösung gleichfalls unter keinen Umständen zu erwarten. Die Verwendung einer enormen Quantität Pepsin — 5 gr auf 0,5 gr Casein — konnte daran nichts ändern.

Etwas anders liegen die Verhältnisse für die erste Versuchsreihe l. c. S. 39. In dieser bleibt das Verhältniss zwischen Pepsin und Casein constant und zwar 2:1, dagegen wuchs die Quantität der Verdauungssalzsäure an. Von den einzelnen Versuchen dieser Reihe scheidet VIII von vornherein aus, die Quantität des ange-

wendeten Caseïns war zu gering, nämlich nur 4 mgr! An so kleinen Quantitäten lassen sich natürlich entscheidende Beobachtungen überhaupt nicht ausführen, auch Nr. VII mit 8 mgr kommt kaum in Betracht. Was die übrigen Versuche betrifft, so war in den Versuchen I, II, III und IV vollständige Auflösung nicht zu erwarten, da in diesen das Verhältniss zwischen Caseïn und Pepsinsalzsäure hierfür zu eng ist, nämlich 1:40, 1:80, 1:160, 1:320; dagegen hätte in den Versuchen V und VI, in denen das Verhältniss = 1:640 bezw. 1:1280 ist, allerdings vollständige Lösung eintreten müssen. Wenn das nun nicht geschehen ist, auch nicht nach Ablauf eines halben Jahres, so können verschiedene Ursachen dabei mitgewirkt haben. Zunächst ist W. in dieser Reihe den Nachweis schuldig geblieben, dass das Ungelöste wirklich Paranuclein war, wozu mindestens der Nachweis des Phosphorgehalts gehört hätte; es könnte sich sehr wohl um Verunreinigungen, namentlich Spuren von Fett gehandelt haben. Wenn das Ungelöste aber wirklich Paranuclein war, so ist einerseits an eine störende Wirkung des Milchezuckers zu denken, welcher noch in den Mischungen vorhanden war, während meine Angaben sich auf milchzuckerfreie Mischungen beziehen; andererseits ist auch an die Möglichkeit zu denken, dass das von Wróblewski angewendete Witte'sche Pepsin nach dieser Richtung nicht so wirksam ist, wie das Finzelberg'sche. Thatsächlich habe ich früher bei Verdauungsversuchen das Witte'sche Pepsin weniger wirksam gefunden, wie das Finzelberg'sche. Wie dem auch sein mag, jedenfalls steht es fest, dass bei genauer Innehaltung der von mir angegebenen Versuchsbedingungen eine vollständige Lösung des Caseïns jederzeit erzielt werden kann.

Im Anschluss an diese Versuche habe ich einige weitere über die Bedingungen der Verdauung des Caseïns angestellt. Es sollte zunächst der Einfluss des Pepsins als solchen festgestellt werden, und dementsprechend nur die Quantität desselben variiren, dagegen constant bleiben die Quantität des Caseïns, der Verdauungssalzsäure und des Volumens der Mischung. Diese Bedingungen habe ich in folgender Weise zu realisiren gesucht.

Versuch XII.

Angewendete Lösungen.

1. 12 gr Caseïn wurden mit Hülfe von 18 cem Halbnormallauge in

Wasser gelöst, auf 600 ccm aufgefüllt, filtrirt. Vom Filtrat wurden zu jeder Mischung 100 ccm genommen = 2 gr Casein = 1,74 gr Reincasein.

2. Pepsinsalzsäure, welche in 500 ccm die wirksamen Bestandtheile von 2 gr Pepsin enthält (dagegen natürlich keinen Milchzucker).

3. Verdauungssalzsäure, 10 ccm Salzsäure von 1,124 auf 1 Liter aufgefüllt.

Die Mischungen hatten folgende Zusammensetzung:

Bezeichnung	Caseinlösung in ccm	Verdauungssalzsäure in ccm	Pepsinsalzsäure in ccm	Gehalt an HCl in gr	Gehalt an Pepsin in %
A	100	368,75 + 20 = 388,75	31,25	0,216	0,125
B	100	337,5 + 20 = 357,5	62,5	0,216	0,25
C	100	275 + 20 = 295	125	0,216	0,5
D	100	150 + 20 = 170	250	0,216	1,0

Der Zusatz von je 20 ccm (abgerundet statt 19,49 ccm) Verdauungssalzsäure hatte den Zweck, das Natron zu neutralisiren.

Das Volumen aller Mischungen betrug 520 ccm, sie enthielten dieselbe Quantität Casein, dieselbe Quantität Verdauungssalzsäure, dagegen stand das Pepsin in den einzelnen Mischungen in dem Verhältniss von 1:2:4:8. Bei der Herstellung der Mischungen wurde natürlich die Caseinlösung zuerst mit Verdauungssalzsäure, dann mit Pepsinsalzsäure versetzt.

Nach 46 stündiger Digestion wurden die Flaschen auf Eis abgekühlt, dann von vornherein mit Aether durchgeschüttelt, alles Ungelöste auf gewogenem Filter gesammelt, dabei folgende Zahlen erhalten:

A 0,0827 gr = 4,71 % des angewandten Caseins.

B 0,0720 „ = 4,14 „ „ „

C 0,0340 „ = 1,95 „ „ „

D 0,028 „ = 1,61 „ „ „

Die erhaltenen Lösungen wurden — jede für sich — unter genauer Neutralisation auf 50 ccm eingedampft, von einer leichten Trübung abfiltrirt, durch Essigsäurezusatz auf etwaigen Gehalt an unverändertem Casein, durch Kupfersulfat und Natronlauge auf Albumosen geprüft. Essigsäure bewirkte entweder gar keine Veränderung oder eine ganz leichte schleierartige Trübung, die Biuretreaction war sehr stark und rein roth.

Der Sicherheit wegen wurde der Versuch wiederholt.

Versuch XIII.

Die Mischungen waren genau ebenso zusammengesetzt, die Digestion dauerte gleichfalls 46 Stunden. Abweichend von dem vorigen Versuche wurden die Mischungen nach der Digestion nicht zuerst mit Aether ge-

schüttelt, sondern direct filtrirt und zwar durch die dichten Filter von Schleicher und Schüll No. 590 (11 cm Durchmesser). Die Filtration ging anfangs ziemlich schnell, dann aber ausserordentlich zögernd; sie war nur dadurch zu beendigen, dass der Filterinhalt in die Flüssigkeit zurückgegossen und das Filter durch Ausspritzen des fest anheftenden Paranucleins in die zu filtrirende Flüssigkeit hinein wieder filtrationsfähig gemacht wurde. Dass dabei kleine Verluste vorkommen können, ist selbstverständlich.

Die ungelösten Rückstände betrugen:

A	0,1010 gr = 5,80 %
B	0,0658 „ = 3,78 „
C	0,0276 „ = 1,50 „
D	0,0152 „ = 0,87 „

In beiden Versuchen ist eine Abnahme des ungelösten Rückstandes mit Zunahme des Pepsins unverkennbar, ein Parallelismus aber nicht vorhanden, obwohl im Versuch XII eine Annäherung hieran stattzufinden scheint. Setzt man die Quantität des in D gebliebenen Rückstandes = 1, so beträgt er für B 1,83, für C 4,34, für D 6,67, während die entsprechenden Zahlen 1 : 2 : 4 : 8 sein sollten. Es wäre nicht gerade undenkbar, dass die Abweichungen von dem geforderten Verhältniss durch Versuchsfehler bedingt sind, denn die Durchführung der Versuche ist recht schwierig, aber es ist kein genügender Grund vorhanden, eine solche Uebereinstimmung a priori als wahrscheinlich vorauszusetzen.

Die Wirkung eines Enzyms kann man vergleichend natürlich nur beurtheilen nach der Quantität des in einer gegebenen Zeiteinheit von ihm gebildeten Productes. Alle für die vergleichende Bestimmung des Pepsins angegebenen Methoden kommen im Princip hierauf zurück, wobei natürlich der Grenzfall nach oben, vielleicht auch nach unten, bei minimalen Quantitäten Pepsin, ausgeschlossen ist. Berechnet man im vorliegenden Falle die Quantität des verdauten Caseins in Procenten durch Abziehen des unlöslich gebliebenen Antheils von 100¹⁾, so ergibt sich

1) Ich habe mich früher bei anderer Gelegenheit gegen das Verfahren ausgesprochen, die Differenz zwischen dem ungelösten Rückstand und dem zum Versuch angewendeten Eiweiss als Quantität des Verdauungsproductes zu betrachten, weil das Neutralisationspräcipitat nicht als Verdauungsproduct anzusehen ist; beim Casein ist dieses Verfahren aber zulässig, weil das Casein kein Neutralisationspräcipitat giebt. Dagegen ist ein anderer Einwand mög-

als verdaut: bei A 99,13%, B 98,41 %, C 96,32 %, D 94,30 % oder wenn man die in D verdaute Quantität = 100 setzt, ist in C verdaut 99,27 %, in B 97,07 %, in A 95,03 %.

Die Quantität des Pepsins hat demnach nur einen ganz minimalen Einfluss auf die Quantität der Verdauungsproducte geübt, aber nach dem übereinstimmenden Ergebniss beider Versuchsreihen ist nicht daran zu zweifeln, dass ein solcher Einfluss in der That vorhanden ist.

Diese Beobachtung steht wenig in Einklang mit unseren sonstigen Anschauungen über die Abhängigkeit der Producte von der Quantität des Ferments: in der Regel nehmen wir an, dass — natürlich *ceteris paribus* — zwischen beiden eine directe Proportionalität besteht, vorausgesetzt, dass nicht schon die kleinste der im Versuch angewendeten Fermentmengen die obere Grenze erreicht, über welche hinaus eine Vermehrung des Ferments ohne Einfluss ist, und unter der Voraussetzung, dass es gelingt, störende Einflüsse, wie beispielsweise bei der Pepsinverdauung die Anhäufung der Verdauungsproducte, welche Salzsäure binden, fernzuhalten. Für die Pepsinverdauung liegen allerdings noch besondere Angaben vor. Nach E. Schütz¹⁾ sollen sich die Quantitäten des gebildeten Peptons (beurtheilt nach der Circularpolarisation) verhalten wie die Quadratwurzeln aus der Pepsinmenge. Nach dem Citat von Samojloff²⁾ hat Borissow dieses Gesetz durch Messung der Zeitdauer der Verdauung (also nach einer anderen Methode!) bestätigt. Trotzdem muss ich gestehen, dass ich gegen die Gültigkeit dieses Gesetzes meine Bedenken habe und die

lich. Der Berechnung liegt die Voraussetzung zu Grunde, dass das in Lösung gegangene Casein plus dem ungelösten Rückstand 1,74 gr beträgt. Diese Voraussetzung ist nicht ganz richtig, da bei der Auflösung des Caseins immer einzelne Partikelchen ungelöst bleiben, vielleicht auch die Caseinlösung nicht ganz in derselben Concentration filtrirte, mit der sie auf das Filter gegossen wurde. Die angewendete 100 ccm Caseinlösung enthielten also wahrscheinlich nicht ganz 1,74 gr Reincasein. Die Differenzen sind aber, wie aus späteren Versuchen hervorgeht, jedenfalls gering und — worauf es ganz besonders ankommt — die relativen Verhältnisse zwischen den Nummern einer jeden Versuchsreihe werden dadurch nicht oder doch so gut wie nicht, beeinflusst.

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 9, S. 377.

2) Arch. des scienc. biol. p. p. l'Inst. imp. de St. Petersbourg. II. S. 725.

Frage nicht für spruchreif halte, soviel ist indessen klar, dass die Quantitäten der Verdauungsproducte im vorliegenden Fall sich weder dem Gesetze der directen Proportion, noch der Proportion nach der Quadratwurzel fügen, also weder der einen noch der anderen Anschauung entsprechen.

Nun besteht bezüglich der Pepsinverdauung allerdings noch die Complication, dass das Product der Fermentation kein einheitliches ist, und dass die grössere Energie des Ferments sich nicht allein auszudrücken braucht in der Menge des Products, sondern auch in der Bildung höherer Stufen der Hydratation d. h. in dem Vorwalten stärker hydrirter Producte bei grösserer Energie der Verdauung. Das scheint auch im vorliegenden Falle Geltung zu haben, wenigstens lassen sich die Ergebnisse der Polarisation in diesem Sinne deuten.

Die aus den einzelnen Mischungen erhaltenen Filtrate wurden — jedes für sich — bei schwach alkalischer Reaction eingedampft, auf 50 cem gebracht, abfiltrirte Proben auf Circularpolarisation untersucht. Es diente hierzu ein Halbschattenapparat, welcher für ein 2 Decimeter-Rohr auf Traubenzuckerprocente eingetheilt ist und die Ablesung von Zwanzigstelprocenten mit aller Sicherheit gestattet.

Die Untersuchung ergab bei Anwendung eines 10 cm langen Rohres in Zuckerprocenten:

- A 2,85 %
- B 2,85 „
- C 3,05 „
- D 3,35 „

Setzt man die in D beobachtete Polarisation = 100, so beträgt sie in C 91,04, B und A 85,74. Die Unterschiede zu der ersten Reihe (C 99,27, B 97,07, A 95,03) beruhen wahrscheinlich darauf, dass in den stärkeren pepsinhaltigen Lösungen die Hydratation weiter gegangen ist und diese Producte stärker drehen; jedenfalls ist von irgend einer Proportionalität auch hier nicht die Rede.

Es sollte nunmehr der Einfluss des zweiten Factors, der Salzsäure, geprüft werden. Zu dem Zweck wurde folgendermaassen verfahren.

1) Bei Anwendung dieses Rohrs müssen die abgelesenen Procente mit 2 multiplicirt werden; da die Lösung aus jedem Versuch aber 50 cem betrug statt 100, so ist diese Multiplication unterlassen.

Versuch XIV.

Angewendete Lösungen:

1. Die Caseinlösung wurde ebenso hergestellt, wie in XII und XIII. Zu jeder Mischung wurden 100 ccm genommen = 2 gr Casein = 1,74 Reincasein.

2. Pepsinsalzsäure, welche in 250 ccm 2,5 gr Pepsin enthält bzw. die wirksamen Bestandtheile aus 2,5 gr.

3. Verdauungssalzsäure.

Bezeichnung	Caseinlösung in ccm	Wasser in ccm	Verdauungssalzsäure in ccm	Pepsinsalzsäure in ccm	Gehalt der Mischung an HCl %	Quantität des Pepsins gr
A	100	350	0 + 20 = 20	50	0,027	0,5
B	100	300	50 + 20 = 70	50	0,054	0,5
C	100	250	150 + 20 = 170	50	0,108	0,5
D	100	0	350 + 20 = 370	50	0,216	0,5

Die Herstellung der Mischungen geschah so, dass zu der Caseinlösung zuerst das Wasser hinzugesetzt wurde, dann die Verdauungssalzsäure, dann die Pepsinsalzsäure.

Alle Mischungen hatten dasselbe Volum = 520 ccm, alle enthielten gleich viel Casein und gleich viel Pepsin, dagegen wechselnde Quantitäten Salzsäure. Rechnet man die 20 ccm Verdauungssalzsäure ab, welche zur Neutralisation des Alkalis der Caseinlösung dienten, so enthielt A 50 ccm Verdauungssalzsäure (in der Pepsinsalzsäure), B 100, C 200, D 400, die Salzsäuremengen standen also in den 4 Mischungen in dem Verhältniss von 1:2:4:8.

Die Verdauung verlief in allen Mischungen anscheinend ziemlich gleichmässig. Da zu erwarten war, dass die Unterschiede bei kürzerer Dauer der Einwirkung eher herantreten würden, so wurde die Digestion schon nach 21 Stunden unterbrochen. Zur Filtration diente Filterpapier von Schleicher und Schüll No. 590 (11 cm). Die Filtration verlief sehr zögernd, namentlich bei Mischung C, bei welcher sie nur schwer zu Ende zu bringen war.

Der ungelöste Rückstand betrug

bei A 0,0809 gr = 4,65 %
 „ B 0,0468 „ = 2,69 „
 „ C 0,0440 „ = 2,53 „
 „ D 0,0410 „ = 2,35 „

Die Unterschiede sind minimal, sie liegen für B, C, D wohl in den Grenzen der Beobachtungsfehler, nur für A ist ein realer Unterschied anzunehmen. Aber auch für diese Mischung erscheint der Unterschied sehr geringfügig, wenn man wiederum die Quantität der löslichen Verdauungsproducte

in Betracht zieht. Diese beträgt in Procenten vom angewendeten Reincasein: bei A 95,35, B 97,31, C 97,47, D 97,65.

Es ist sehr bemerkenswerth, dass auch in der Mischung mit dem geringsten Säuregehalt, welche nur 0,027 % HCl. beträgt, über 95 % des angewendeten Caseins verdaut sind.

Derselbe Versuch wurde noch einmal angestellt mit der Modification, dass die Quantität des Pepsins doppelt so gross gewählt wurde.

Versuch XV.

Angewendete Lösungen:

1. Caseinlösung ebenso wie in XIV.
2. Pepsinsalzsäure, welche in 250 ccm 5,0 gr Pepsin enthielt, resp. die wirksamen Bestandtheile aus 5 gr.
3. Verdauungssalzsäure.

Die Mischungen A, B, C, D waren genau so zusammengesetzt, wie in Versuch XIV, der Unterschied bestand, wie erwähnt, nur darin, dass die Caseinlösung doppelt soviel Pepsin enthielt. Die Digestion dauerte 20 Stunden. Vor der Filtration wurden die Mischungen mit Aether durchgeschüttelt, zur Filtration wurde Schleicher und Schüll'sches Papier Nr. 589 benutzt. Die Mischungen filtrirten gut mit Ausnahme von D, bei welcher die Filtration nur schwierig zu beendigen war.

Der ungelöste Rückstand betrug

bei A	0,0162 gr = 0,93 %
„ B	0,0148 „ = 1,06 „
„ C	0,0159 „ = 0,91 „
„ D	0,0286 „ = 1,64 „

Die Vermehrung der Salzsäure war in diesem Fall ohne jeden Einfluss, ja merkwürdigerweise war in der Mischung mit dem grössten Salzsäuregehalt die Quantität des ungelösten Rückstandes am grössten.

Man konnte nun wohl daran denken, dass der Einfluss der Quantität der Salzsäure sich doch geltend machen werde, wenn die Quantität des Caseins grösser gewählt wird.

Zur Prüfung dieser Voraussetzung diene der folgende Versuch.

Versuch XVI.

Angewendete Lösungen:

1. Caseinlösung. 24 gr Casein mit Hülfe von 36 ccm Halbnormallauge in Wasser gelöst, auf 600 ccm verdünnt, filtrirt. Vom Filtrat 100 ccm = 4 gr Casein = 3,48 gr Reincasein zu jeder Mischung.
2. Pepsinsalzsäure, welche in 250 ccm 2,5 gr Pepsin enthielt bzw. die wirksamen Bestandtheile aus 2,5 gr¹⁾.

1) Die kleinere Quantität Pepsin, so wie in Versuch XIV, wurde gewählt, weil in diesem Falle eher ein Einfluss der Salzsäure zu erwarten war.

3. Verdauungssalzsäure.

Zusammensetzung und Herstellung der Mischungen war genau so, wie in XIV und XV, nur mit dem Unterschied, dass zur Neutralisation der doppelten Quantität Alkali auch doppelt soviel Salzsäure erforderlich war, also abgerundet 40 ccm Verdauungssalzsäure.

Die Verdauung ging erheblich langsamer wie bisher, sie wurde 46 Stunden fortgesetzt. die Quantität des Ungelösten war so gross bzw. die ungelöste Substanz so voluminös, dass es von vorneherein unmöglich erschien, die Rückstände auf gewogenen Filtern zu sammeln. Es wurde daher folgender Weg eingeschlagen. Alle Mischungen wurden auf Eis abgekühlt, dann zum Volum von 800 ccm aufgefällt, durch trockne Filter filtrirt.

a) 600 ccm des Filtrats wurden zum Sieden erhitzt, schwach alkalisirt, eingedampft, zum Volum von 100 ccm aufgefüllt und polarimetrisch untersucht.

b) In 100 ccm wurde der Stickstoff nach Kjeldahl (mit Quecksilberoxyd) bestimmt.

Es wurde gefunden.

Mischung	N in 100 ccm	N aufs Ganze berechnet	Casein ¹⁾ in Lösung ge- gangen	
			in gr	in % des angewendeten
A	0,05915	0,4732	3,014	86,6
B	0,0644	0,5152	3,281	94,28
C	0,06475	0,5180	3,299	94,80
D	0,0644	0,5152	3,281	94,28

Die Unterschiede in der Quantität des in Lösung gegangenen Caseins, also der gebildeten Caseose, liegen für die Mischungen B, C, D durchaus innerhalb der Versuchsfehler, ja die Zahlen zeigen sogar eine auffallende Uebereinstimmung, nur in der Mischung A mit dem geringsten Salzsäuregehalt ist augenscheinlich etwas weniger in Lösung gegangen, aber auch hier sind die Differenzen sehr gering.

Setzt man das Mittel des in den Versuchen B, C, D in Lösung gegangenen Caseins (3,287 gr) = 100, so sind in Versuch A 91,63 gelöst.

Für die Theorie der Pepsinverdauung ist es von Interesse, die Quantität der in Versuchsnummer A gebildeten Caseose mit der Quantität der vorhandenen Salzsäure zu vergleichen. In der Mischung A waren vorhanden 0,1405 gr HCl gegenüber 3,014 Casein. Das Verhältniss von HCl : Casein beträgt also 1 : 21,45 resp. die Salzsäure beträgt 4,45 % der Summe von Caseose + Salzsäure, wenn man annimmt, dass die Salzsäure an die Caseose gebunden ist.

Man könnte die Ergebnisse dieses Versuches XVI als in

1) Bei der Berechnung ist der N-Gehalt des Caseins = 15,7 % gesetzt.

Widerspruch stehend betrachten mit den früheren Versuchen X und XI. In diesen beiden Versuchen waren die Versuchsbedingungen ganz dieselben, wie in XVI mit dem einzigen Unterschied, dass die Quantität des angewendeten Pepsins 1 gr betrug und nicht, wie in XVI 0,5 gr, ein Unterschied, der zwar einen gewissen Einfluss haben kann, aber keinen erheblichen. In den Versuchen X und XI betrug der ungelöste Rückstand direct bestimmt 2,38 und 2,07 %, dagegen stellt sich derselbe in Versuch XVI auf 5,72 %, wenn man ihn durch Subtraction der gelösten Quantität in Procenten von 100 berechnet. Diese Berechnung geht aber, wie ich S. 413 u. 414 in der Anmerkung ausgeführt habe, von Unterlagen aus, die nicht streng richtig sind. Eine directe N-Bestimmung in 100 cem der filtrirten Caseïnlösung würde die richtige Unterlage für die Berechnung gegeben habe, leider habe ich es versäumt, eine solche auszuführen und die nachträgliche Ausführung an einer zu dem Zweck hergestellten Caseïnlösung schien mir ohne Werth, da die Lösungen sich doch nicht absolut gleich herstellen lassen. — Der Versuch ist also für die Bestimmung des ungelösten Rückstandes nicht zu verwerthen. Dagegen werden die Zahlen für die gelösten Quantitäten des Caseïns nur wenig, die relativen Zahlen zwischen den einzelnen Summen des Versuches überhaupt unmerklich von dem angegebenen Fehler in den Annahmen berührt. Zur weiteren Sicherung des Resultats wurde auch dieses Mal in den neutralisirten resp. schwach alkalisirten Filtraten nach dem Eindampfen auf 100 cem die Polarisation im 1 Decimeter-Rohr bestimmt. Die direct abgelesenen Zahlen in Zuckerprocenten waren: A 2,20, B 2,45, C 2,45, D 2,40. Diese Zahlen sind, da der Apparat für ein 2 Decimeter-Rohr graducirt ist, mit 2 zu multipliciren und da von 800 cem nur 600 zum Eindampfen genommen sind, noch mit $\frac{8}{6}$ zu multipliciren. Nach dieser Rechnung ergibt sich in Zuckerprocenten A 5,87, B 6,53, C 6,53 D 6,40. Setzt man den Mittelwerth von B, C, D = 100, so ergibt sich für A 90,53, was mit der durch die Stickstoffbestimmungen ermittelten Zahl 91,63 nahe übereinstimmt.

Versuch XVII.

Der Versuch XVI wurde der Sicherheit halber wiederholt, die Digestion jedoch in der Hoffnung, grössere Ausschläge zu erhalten, nur 20 Stunden fortgesetzt. Die Verarbeitung war genau so, wie in XVI.

Es wurde gefunden:

Mischung	N in 100 ccm	N aufs Ganze berechnet	Casein in Lösung gegangen	
			in gr	in % des angewendeten Caseins
A	0,061425	0,4914	3,130	89,94
B	0,064575	0,5166	3,290	94,55
C	0,085275	0,5220	3,326	95,56
D	0,06475	0,5180	3,299	94,80

Setzt man das Mittel des in den Versuchen B, C, D in Lösung gegangenen Caseins $(3,305) = 100$, so sind in Versuch A 94,71 gelöst, also noch etwas mehr, als im vorigen Versuch. Aus den oben erörterten Gründen haben die Zahlen hauptsächlich in ihrer Relation zu einander Werth. Dass und aus welchen Gründen die abgeleitete Zahl für den ungelöst gebliebenen Rückstand höher ist, als man nach den Ergebnissen der Versuche X und XI erwarten sollte, ist gleichfalls oben schon erörtert.

In den neutralisirten bzw. schwach alkalisirten Filtraten wurde nach dem Eindampfen auf 100 ccm die Polarisation im 1 Decimeter-Rohr bestimmt. Die direct abgelesenen Zahlen in Zuckerprocenten sind: A 2,25, B 2,45, C 2,45, D 2,45. Setzt man die in B, C und D beobachtete Drehung $= 100$, so beträgt sie für A 91,8, also wie in XVI gleichfalls etwas weniger, als durch die directe Stickstoffbestimmung ermittelt ist (94,71 %). Die Differenz ist etwas grösser, wie in XVI.

Da auch in diesen beiden Versuchen der Einfluss der Steigerung der Quantität der Salzsäure sich nur unbedeutend herausstellte, so wurde schliesslich noch die doppelte Quantität Casein angewendet.

Versuch XVIII.

Angewendete Lösungen:

1. Caseinlösung ebenso wie in XIV XV und XVI, jedoch zu jeder Mischung 200 ccm $= 8$ gr Casein $= 6,96$ Reincasein.
2. Pepsinsalzsäure, in 100 ccm 1 gr Pepsin enthaltend.
3. Verdauungssalzsäure.

Es wurden nur 2 Mischungen angesetzt, A bestand aus 200 ccm Caseinlösung, 210 ccm Wasser, 80 ccm Verdauungssalzsäure zur Neutralisirung des Natrons, 50 ccm Pepsinsalzsäure $= 0,5$ Pepsin.

B bestand aus 200 ccm Caseinlösung, 60 ccm Wasser, 80 ccm Verdauungssalzsäure zur Neutralisirung, weiteren 150 ccm Verdauungssalzsäure, 50 ccm Pepsinsalzsäure.

Beide Mischungen hatten also dasselbe Volum $= 540$ ccm, enthielten dieselbe Quantität Casein $= 6,96$ Reincasein, dieselbe Quantität Pepsin $= 0,5$ gr,

dagegen verschiedene Mengen Salzsäure, nämlich A 0,1405 gr HCl = 0,026 %, B 0,562 gr = 0,104 %, B enthielt also 4 Mal soviel Salzsäure, wie A.

Die Digestion dauerte nur 20 Stunden, die Verarbeitung war wie bisher, die Mischungen wurden auf 800 ccm aufgefüllt, filtrirt. Der N in 50 ccm bestimmt.

Es wurde gefunden:

Mischung	N in 100 ccm	N aufs Ganze berechnet	Casein in Lösung gegangen	
			in gr	in %
A	0,0959	0,7672	4,887	70,22
B	0,1211	0,9688	6,171	88,65

Setzt man die in B in Lösung gegangene Quantität = 100, so sind in A 79,21 gelöst; in diesem Fall hat die Verminderung der Salzsäure allerdings sehr merklich auf die Quantität der Verdauungsproducte eingewirkt.

In der Mischung A dieses Versuchs tritt die Salzsäure gegenüber der Caseose noch mehr zurück, wie in Versuch XVII A und XVII A. In der Mischung XVIII A waren vorhanden, 0,1405 gr HCl gegenüber 4,887 gr Caseose. Das Verhältniss von HCl:Caseose beträgt also 1:34,6 resp. die Salzsäure beträgt nur 2,82 % der Summe von Caseose und Salzsäure, wenn man annimmt, dass die Salzsäure an die Caseose gebunden ist.

Will man die Ergebnisse der vorstehenden Versuche in einigen Sätzen zusammenfassen, so würden diese etwa folgendermassen lauten können:

1. Es gelingt unter bestimmten, jederzeit leicht herstellbaren Bedingungen mit Sicherheit, Casein in Pepsinsalzsäure ohne jeden Rest zur Auflösung zu bringen. Man kann darauf rechnen, wenn das Verhältniss zwischen Casein und verdauender Flüssigkeit = 1:500 ist und das Casein vorher gelöst, der Einfluss hart getrockneter Caseinpartikelchen also ausgeschlossen ist (Versuch IV, V, VI, VII).

2. Vollständige Lösung tritt nicht mehr ein, wenn das Verhältniss zwischen Casein und Verdauungsflüssigkeit = 1:250 ist, es bleibt dann ein Rest von etwa 1 % ungelöst (Versuch VIII, IX); bei weiterer Verengerung steigt der ungelöste Rest mehr und mehr an (Versuch X, XI), wie dieses schon in der Arbeit von M. Hahn und mir ausgeführt ist.

3. Der Wechsel der Quantität des Pepsins vom 1—8 fachen übt beim Gleichbleiben aller übrigen Bedingungen und vollkommen

ausreichender Quantität der Salzsäure einen unzweifelhaften, aber äusserst geringfügigen Einfluss auf die Quantität des Paranucleïns aus (Versuch XII, XIII).

4. Die Quantität der Salzsäure ist bei Gleichbleiben aller anderen Bedingungen in den Grenzen von 0,054—0,216 % HCl ohne jeden Einfluss auf die Verdauung des Caseïns, bei einem Gehalt von 0,027 % HCl ist eine Abnahme der Verdauung nachweisbar, aber sie ist äusserst geringfügig, so lange zwischen Caseïn und verdauender Flüssigkeit das Verhältniss 1:130 bis 1:135 nicht nach unten überschritten wird (Versuch XIV, XV, XVI, XVII). Bei einem Verhältniss von Caseïn und verdauender Flüssigkeit von 1:67,5 ist der Unterschied zwischen der Wirkung von 0,026 und 0,104 % HCl schon sehr merklich (Versuch XVIII).

5. Das Verhältniss zwischen HCl und der aus dem Caseïn gebildeten Caseose kann bis auf 1:34,6 sinken, resp. der Procentgehalt der Albumose-Salzsäureverbindung bis auf 2,82%. Ob damit die unterste Grenze erreicht ist, bleibt noch zu untersuchen.