

(Aus dem physiol.-chemischen Institut der Universität Budapest.
Direktor: Professor Fr. T a n g l.)

Untersuchungen über die Wärmetönung von Enzymreaktionen.

II. Mitteilung.

Einige Versuche über die Wärmetönung der Pepsinverdauung des Eiweisses.

Vorläufige Mitteilung.

Von

Dr. **Roland v. Lengyel.**

Im folgenden will ich kurz über einige Versuche berichten, deren Zweck es war, die Wärmetönung der Pepsinverdauung festzustellen. Leider haben äussere Verhältnisse mich gezwungen, die Untersuchungen vorläufig abubrechen. Wenn auch meine bisherigen Versuche die Frage durchaus nicht entscheiden können, so haben sie doch zu einem Ergebnis geführt, das meiner Ansicht nach mitgeteilt werden kann.

Die Frage, die ich beantworten wollte, war folgende: Geht während der Pepsinverdauung chemische Energie verloren bzw. wird chemische Energie in Wärme umgesetzt? Bestimmt man auf kalorimetrischem Wege den Gehalt eines Verdauungsgemisches an chemischer Energie vor und nach der Verdauung, so gibt die Differenz die Antwort auf die gestellte Frage, vorausgesetzt, dass während der Verdauung oder der Vorbereitung zur Verbrennung keine chemische Energie verloren geht.

Meine Versuchsanordnung war die folgende:

In eine grössere Anzahl kleiner Erlenmayer-Kolben wurden genau je 0,7500 g Merck'sches Ovalbumin abgewogen. Ferner habe ich 0,2500 g Merck'sches Pepsin und 1,1250 g reine trockene Oxalsäure gewogen und beide in 250 ccm Wasser gelöst. Je 15 ccm dieser Lösung enthielten 0,0150 g Pepsin und 0,1 Gramm-Molekül, d. i. 0,0675 g Oxalsäure. Oxalsäure an Stelle der Salzsäure wählte

ich deshalb, weil die Salzsäure beim Eintrocknen der Gemische auf dem Wasserbade die Eiweisskörper teilweise zerstört. Andererseits soll die Verdauung bei Gegenwart von $\frac{1}{10}$ Oxalsäure — im Vergleich zu den übrigen Säuren — am besten vor sich gehen¹⁾. In jedes Kölbchen goss ich zu dem Ovalbumin genau 15 ccm dieser Pepsin-Oxalsäurelösung, ausserdem 15 ccm destilliertes Wasser und zur Verhütung von Bakterienentwicklung 1 ccm Chloroform. Nachdem das Eiweiss grösstenteils gelöst war, stellte ich die Kölbchen in einen auf 40° C. geheizten Thermostaten. Gleichzeitig wurden vom Ovalbumin und vom Pepsin eine zur Bestimmung der Trockensubstanzgehalte entsprechende Menge bei Zimmertemperatur im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Die einzelnen Kölbchen wurden dann nach verschieden langer Verdauung verarbeitet, indem ihr Inhalt quantitativ in Kristallisationsschalen gespült und auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft wurde; gleichzeitig wurde in andern Kölbchen qualitativ auf gerinnbares Eiweiss und Pepton geprüft. Den auf dem Wasserbade gewonnenen Trockenrückstand liess ich im Zimmer zugedeckt 24 Stunden stehen, wog Schale samt Inhalt genau ab und kratzte dann letzteren so weit möglich heraus und presste daraus Pastillen. Der in der Schale zurückgebliebene minimale Rest wurde durch Wägen der Schale vor und nach dem Reinigen bestimmt. Die genau gewogene Pastille wurde dann in einer Berthelot-Mahler'schen Bombe verbrannt. Um festzustellen, ob das Lösen und Eindampfen nicht auch den Energiegehalt des Ovalbumins verändern, habe ich zwei Proben ganz so wie zu den Verdauungsversuchen bereitet, dann aber, nachdem das Eiweiss sich gelöst hat, nicht in den Thermostaten gestellt, sondern sofort eingedampft und den Trockenrückstand so verarbeitet wie bei den übrigen Verdauungsgemischen. Da ich die Verbrennungswärme des verwendeten (trockenen) Ovalbumins und Pepsins noch besonders bestimmte und die Verbrennungswärme der Oxalsäure (60,2 Kal.) bekannt ist, so liess sich der Energiegehalt des Gemisches berechnen und mit dem tatsächlich gefundenen vergleichen.

Die Verbrennung der Pastillen in der Berthelot-Mahler'schen Bombe verlief in den meisten Fällen ganz glatt; nur einige Male blieb etwas Kohle — (das Maximum war 0,0006 g) — zurück, die ich gewogen und deren Verbrennungswärme ich dann in Rechnung gestellt habe.

1) Wroblewski, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 21 S. 1.

Die Ergebnisse zeigt die folgende Tabelle. Vorausschicken will ich, dass nach je zwei gut übereinstimmenden Bestimmungen der spezifische Energiegehalt (= Verbrennungswärme von 1 g) des Merck'schen Ovalbumins 5359 cal, die des Pepsins 4929 cal betrug. (Beide auf Trockensubstanz berechnet.)

Num- mer des Ver- suches	Substanzgehalt des Verdauungs- gemisches	Dauer der Ver- dauung	Energie- gehalt nach der Ver- dauung cal.	Energie- gehalt vor der Ver- dauung, aus dem Ovalbu- min-, Pep- sin- und Oxalsäure- gehalt be- rechnet cal.	Anmerkungen über die Eiweissverhältnisse nach der Verdauung ¹⁾
I.	0,6809 g Ovalbumin 0,0140 g Pepsin 0,0675 g Oxalsäure	Nicht ver- daut. So- fort nach d. Lösung ein- gedampft	3746	3747	—
II.	do.	do.	3741	3747	—
III.	0,6794 g Ovalbumin 0,0140 g Pepsin 0,0675 g Oxalsäure	2 Tage	3756	3739	{ Viel koagulables Eiweiss. Schwache Peptonreaktion
IV.	do.	6 Tage	3739	3739	{ Koagulables Eiweiss weni- ger als bei III. Pepton- reaktion stärker
V.	do.	6 Tage	3735	3739	
VI.	do.	8 Tage	3739	3739	{ Koagulum noch weniger als bei IV. Starke Pepton- reaktion
VII.	do.	8 Tage	3721	3739	
VIII.	do.	10 Tage	3726	3739	{ Gerinnbares Eiweiss kaum vorhanden. Sehr starke Peptonreaktion

In keinem Verdauungsgemisch fand ich in gefärbten Deckglas-trockenpräparaten Bakterien.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass der Energiegehalt des Ovalbumins (richtiger gesagt Ovalbumin + Pepsin + Oxalsäure) durch Auflösen und nachfolgendes Eindampfen der Lösung — ohne Verdauung — in seinem Energiegehalte keine Veränderung erleidet.

1) Wie aus dem Texte ersichtlich, wurden diese Proben nicht an den der kalorimetrischen Bestimmung unterzogenen Verdauungsgemischen vollzogen, sondern an solchen, die in besonderen Kölbchen von derselben Zusammensetzung und gleichlange verdaut wurden.

Eine in Betracht kommende Veränderung im Energiegehalte lässt sich auch in den der Verdauung unterworfenen nicht konstatieren. Wohl kann man mit fortschreitender Verdauung eine geringe Abnahme bemerken, — doch beträgt das grösste Defizit bloss 30 cal.

Das ist ein Betrag, der noch innerhalb der Versuchsfehler liegt — ist doch der Energiegehalt des ganzen Verdauungsgemisches etwa 4000 cal. Jedenfalls muss noch in zahlreicheren Versuchen und durch genaue Feststellung des Fortschrittes der Verdauung ermittelt werden, ob dieser minimalen — und, wie gesagt, innerhalb der Versuchsfehler liegenden — Energieabnahme irgendeine Bedeutung zukommt.

So viel glaubte ich aber für alle Fälle aus meinen bisherigen Versuchen folgern zu können: dass die Wärmetönung der Pepsinverdauung wahrscheinlich neutral ist, jedenfalls aber höchstens mit einer ausserordentlich minimalen Wärmeproduktion einhergeht.

Zum Schlusse möchte ich noch kurz auf eine Bemerkung von R. O. Herzog reflektieren. Herzog hat für eine Reihe von Fermentreaktionen die Wärmetönung berechnet, was für die eiweiss-spaltenden Enzyme nicht möglich ist. „Es wäre nun“, schreibt er¹⁾, „sehr wünschenswert, die Wärmetönung solcher Reaktionen zu kennen, in welchen die eiweiss-spaltenden Enzyme wirksam sind. Leider sind bisher aber solche Verbindungen bekannter Konstitution, deren Verbrennungswärme man bestimmen könnte, nicht zugänglich.“ Leicht könnte diese Bemerkung den Glauben erwecken, dass man aus der Wärmetönung der Spaltung, welche ein eiweiss-spaltendes Ferment in irgendeiner Verbindung bekannter Konstitution bewerkstelligt, auf die Wärmetönung der durch dasselbe Ferment bedingten Eiweiss-spaltung schliessen könnte. Das ist aber durchaus nicht der Fall, denn die Wärmetönung ist nicht die spezifische Eigenschaft des Fermentes, sondern das spezifische Ergebnis einer Reaktion. So bildet sich z. B. unter der katalytischen Wirkung des Platins aus H und O Wasser; in fein zerteiltem Zustande katalysiert aber das Platin auch das H_2O_2 zu O und H_2O . Beide Reaktionen sind exothermisch; doch sind die Wärmetönungen sehr verschieden, trotzdem bei beiden derselbe Katalysator wirksam ist.

Die Untersuchungen habe ich unter der Leitung von Professor F. T a n g l ausgeführt.

1) R. O. Herzog, Fermentreaktion und Wärmetönung. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 37 S. 390.