

Ueber den quantitativen Verlauf der peptischen Eiweisspaltung.

Von

Dr. E. Zunz (Brüssel).

Mit zwei Tafeln.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg. Neue Folge. Nr. 20.)

(Der Redaction zugegangen am 6. Juli 1899.)

In einer vor Kurzem erschienenen Abhandlung¹⁾ habe ich gezeigt, dass die von K. Baumann und A. Bömer²⁾ zur Fällung der Albumosen empfohlene Fällung mit Zinksulfat bei entsprechender Abänderung des Verfahrens ebenso gut zur fractionirten Abscheidung der peptischen Verdauungsprodukte geeignet ist, wie die von E. P. Pick³⁾ zum gleichen Zweck ausgearbeitete Fractionirung mit Ammonsulfat. Da der Bestimmung des Stickstoffs bei Anwendung von Zinksulfat kein Hinderniss entgegensteht, so bietet dieses Verfahren die Möglichkeit, sich auf kurzem Wege über die Vertheilung des Eiweissstickstoffs auf die einzelnen Spaltungsprodukte zu orientiren und damit ein Maass für ihr quantitatives Auftreten im Verlauf der Pepsinverdauung zu gewinnen. Diese Aussicht veranlasste mich auf Vorschlag von Herrn Professor Hofmeister planmässige Versuche in dieser Richtung durchzuführen.

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXVII, 1899, S. 219.

2) A. Bömer, Zinksulfat ein Fällungsmittel für Albumosen. Zeitschrift f. analyt. Chemie, Bd. 34, S. 562. — K. Baumann und A. Bömer, Ueber die Fällung der Albumosen durch Zinksulfat. Zeitschr. f. Untersuchung der Nahrungs- und Genussmittel, Bd. I, 1898, S. 106.

3) E. P. Pick, Ein neues Verfahren zur Trennung von Albumosen und Peptonen. Zeitschr. für physiol. Chemie, Bd. XXIV, 1897. S. 246.

I. Methodisches.

Wie aus der Eingangs erwähnten Arbeit hervorgeht, lassen sich aus peptischen Verdauungslösungen durch Zusatz von Zinksulfat vier Albumosenfractionen gewinnen. Davon enthält die zuerst ausfallende das Gemenge der Proto- und Heteroalbumose (die «primären» Albumosen der Autoren); die zweite, dritte und vierte entsprechen den Deuteroalbumosen A, B und C von E. P. Pick; im Filtrat der vierten Fraction finden sich die «echten» Peptone.¹⁾ Meine wesentliche Aufgabe ging dahin, die Stickstoffmenge zu ermitteln, welche sich in den einzelnen durch Zinksulfat trennbaren Fractionen findet, und welche Veränderung sich in dieser Vertheilung des Stickstoffs im Laufe der Verdauung vollzieht. Es wäre wünschenswerth gewesen, die Menge der Hetero- und Protalbumose und auch des von E. P. Pick unterschiedenen A- und B-Peptons, genauer gesagt, des darin enthaltenen Stickstoffs getrennt zu bestimmen. Da jedoch die zur Isolirung dieser Stoffe vorhandenen Mittel nicht zu einer quantitativen Abscheidung führen, so musste ich vorläufig auf eine Vervollständigung meiner Befunde in dieser Richtung verzichten. Bemerkt sei weiter, dass ich auch auf die im Witte-Pepton in sehr geringer Menge enthaltene Deuteroalbumose A α ²⁾ nicht weiter Rücksicht nahm, da das Vorkommen derselben unter den Verdauungsprodukten der von mir untersuchten Eiweisskörper nicht erwiesen war.

Zunächst versuchte ich die Bestimmung des in den verschiedenen Fractionen vorhandenen Stickstoffs durch direkte Analyse der Niederschläge zu erreichen. Doch erwies sich

1) Da die ausschliessliche Bezeichnung von Proto- und Heteroalbumose als primärer Produkte nicht berechtigt ist, wie aus dem Späteren hervorgeht, habe ich das Attribut «primär», wo es bloss die genannten zwei Albumosen charakterisiren soll, durch Anführungszeichen hervorgehoben. Der Ausdruck «Pepton» ist in vorliegender Arbeit im Sinne Kühne's gebraucht, bezeichnet also die durch Salz nicht mehr fällbaren, aber noch die Biuretreaction gebenden Endprodukte der Verdauung.

2) E. Zunz, loc. cit., S. 239.

dies praktisch als kaum in grösserem Umfang durchführbar. Wegen der geringen Menge der erhaltenen Niederschläge ist man gezwungen, von grösseren Mengen Lösung auszugehen. Das Auswaschen der Niederschläge ist sehr zeitraubend. Die Flüssigkeitsmenge, die man dabei erhält, steigert sich mit jeder Fraction und erschwert, da Eindampfen ausgeschlossen ist, die Bestimmung sehr erheblich, abgesehen davon, dass die eingetretenen Volumänderungen immer wieder neue Volumbestimmungen und Umrechnungen nöthig machen.

Ich habe einige Vorversuche nach diesem Plan durchgeführt. Dabei habe ich die Niederschläge auf Filtern von vorher ermitteltem Stickstoffgehalt gesammelt, so dass Filter sammt Niederschlag zur Bestimmung nach Kjeldahl dienen konnten.

Viel bequemer jedoch und schneller kommt man zum Ziel, wenn man jedesmal den Unterschied zwischen dem Stickstoffgehalt der Verdauungsflüssigkeit vor und nach Abscheidung einer Albumosenfraction feststellt. Bei meinen Untersuchungen habe ich deswegen dieses Verfahren bevorzugt.

Als Ausgangsmaterial diente mir vor Allem krystallisiertes Serumalbumin, dargestellt nach Gürber,¹⁾ und Casein, bereitet nach Hammarsten,²⁾ das letztere von Merck in Darmstadt bezogen. Für ergänzende qualitative Untersuchungen benutzte ich ferner krystallisiertes Eialbumin, dargestellt nach Hofmeister,³⁾ und gereinigtes Serumglobulin.⁴⁾ Sämmtliche Eiweisskörper wurden durch Alkohol coagulirt, die Niederschläge zunächst mit kaltem, dann mit heissem Wasser so lange gewaschen, bis in den Waschwässern keine

1) Gürber, Krystallisation des Serumalbumins, Sitzungsber. d. physik.-med. Ges. z. Würzburg, 1894.

2) O. Hammarsten, Verhandlungen der kgl. schwed. Akad. der Wissenschaften, Upsala 1877.

3) F. Hofmeister, Ueber jodirtes Eialbumin. Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. XXIV, 1897, S. 159.

4) Vgl. W. Reye, Ueber Nachweis und Bestimmung des Fibrinogens, Inaugural-Dissertation, Strassburg 1898.

Sulfatreaction mehr zu erhalten war,¹⁾ hierauf mit Alkohol, dann mit Aether gewaschen, bei Zimmertemperatur getrocknet und feinst gepulvert. Die Vorversuche, die zur Ausmittlung eines zweckentsprechenden Verfahrens nöthig waren, habe ich mit Witte-Pepton ausgeführt.

Als Verdauungsflüssigkeit verwandte ich eine 0,3 %ige Salzsäurelösung, welcher auf 500 ccm. Flüssigkeit 20 cg Pepsinum purissimum von Grübler²⁾ zugesetzt wurden. Die Salzsäure und die verschiedenen den Flüssigkeiten beizumengenden Lösungen, wie Pepsinlösung, Natronlauge, Schwefelsäure, Zinksulfat, prüfte ich stets mit Nessler's Reagens auf Abwesenheit jeglicher Spur von Ammoniak.

Bei den quantitativ durchgeführten Versuchen wurde der Einfachheit wegen die Verarbeitung der Verdauungslösungen stets erst nach Verschwinden des Anfangs entstehenden Acidalbumins begonnen. Das Acidalbumin wird schon durch eine geringe Menge der gesättigten Zinksulfatlösung gefällt. In meinen Versuchen hätte es sich der ersten Fraction beigemischt und für diese einen zu grossen Stickstoffgehalt ergeben.

Der Procentgehalt einer Verdauungsprobe bleibt, guten Verschluss vorausgesetzt, während der ganzen Dauer des Verdauungsprocesses unverändert. Um den Gesamtstickstoffgehalt der Flüssigkeit zu bestimmen, genügt es daher, das Mittel mehrerer in einem beliebigen Stadium der Verdauung nach Kjeldahl ausgeführten Bestimmungen zu nehmen. Die für 10 ccm. ermittelte Zahl setzte ich gleich 100 %. Für die Berechnung des Procentsatzes des in den verschiedenen Fractionen enthaltenen Stickstoffes habe ich dann stets das Resultat der Analysen auf 10 ccm. der ursprünglichen Lösung umgerechnet.

Behufs Bestimmung des Stickstoffs in den einzelnen Fractionen habe ich nachstehenden Weg eingeschlagen. In dem

1) Dies wurde nur durch wochenlanges Waschen erreicht (besonders spät beim Serumglobulin), während die Abwesenheit von Ammoniak durch Nessler's Reagens schon nach einigen Tagen nachweisbar war.

2) Dieses Präparat erwies sich als sehr stark wirksam.

in Aussicht genommenen Zeitpunkte der Verdauung entnimmt man der Verdauungsprobe eine genau gemessene Menge Flüssigkeit, neutralisirt dieselbe sorgfältig durch tropfenweise Zufügung einer verdünnten Natronlauge und säuert sie hierauf durch Zusatz von 2 ccm. verdünnter Schwefelsäure (1 Volumen concentrirter Schwefelsäure auf 4 Volumina Wasser) auf je 100 ccm. Flüssigkeit an. Das Gesamtvolum der Flüssigkeit wird notirt, um festzustellen, in welchem Verhältnisse dasselbe zu 10 ccm. der ursprünglichen Verdauungsflüssigkeit steht. Hierauf fügt man das gleiche Volumen einer kaltgesättigten und in gleichem Maasse mit Schwefelsäure angesäuerten Zinksulfatlösung hinzu. Die «primären» Albumosen werden auf diese Weise in Gestalt feiner Flocken gefällt, welche sich ziemlich schnell auf den Boden des die Flüssigkeit enthaltenden Gefässes absetzen. Um absolut klare und von «primären» Albumosen völlig freie Filtrate zu erzielen, ist es gut, die Flüssigkeit einige Tage an einem kühlen Orte stehen zu lassen. Für die folgenden Fractionen (Deuteroalbumosen) ist diese Vorsichtsmassregel noch mehr erforderlich, da bei ihnen die Abscheidung eines abfiltrirbaren Niederschlags häufig erst nach längerem Stehen erfolgt.

Das Filtriren darf erst dann beginnen, wenn der Niederschlag sich vollständig oder wenigstens zum grössten Theil am Boden des Gefässes abgesetzt hat. Um dem Verlust von Flüssigkeit durch Verdunstung vorzubeugen, empfiehlt es sich, die Filtration an einem kühlen Orte vorzunehmen. Der Trichter mit dem doppelten oder dreifachen Filter steht unmittelbar in dem die filtrierende Flüssigkeit aufnehmenden Kolben und wird sorgfältig mit einer Glasplatte bedeckt gehalten. Vom klaren Filtrat (Filtrat α) wird nun so viel Flüssigkeit abgemessen, als 10 ccm. der Ursprungslösung entspricht, und dann der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Der Unterschied zwischen dem Gesamtstickstoff der ursprünglichen Lösung und dem Stickstoffgehalt des Filtrats α ergibt den in den «primären» Albumosen enthaltenen Stickstoff.

Zum Filtrat α setzt man die zur Fällung der zweiten Fraction nöthige Menge Zinksulfat hinzu. Für Serumalbumin

und Casein muss die Ursprungslösung zu $\frac{2}{3}$ gesättigt werden. Dies wird erreicht, indem man dem Filtrat α die Hälfte seines Volumens an gesättigter saurer Zinksulfatlösung hinzufügt. Nach genügendem Stehen und nach vorsichtigem, wie oben vorgenommenem Filtriren bestimmt man nach Kjeldahl den Stickstoffgehalt eines 10 ccm. der Ursprungslösung entsprechenden Theiles des neuen Filtrats (Filtrat β). Der Unterschied zwischen Filtrat α und β ergibt den Stickstoff der in 10 ccm. enthaltenen Deuteroalbumose A.

Dem Filtrat β wird nun die zur Ausscheidung der Fraction III (Deuteroalbumose B) genügende Menge gesättigter angesäuerter Zinksulfatlösung zugesetzt. Beim krystallisirten Serumalbumin und Casein muss dem Filtrat β eine den $\frac{4}{3}$ seines Volumens entsprechende Menge von Zinksulfatlösung zugesetzt werden, wodurch eine $\frac{6}{7}$ gesättigte Flüssigkeit entsteht. Subtrahirt man den Stickstoffgehalt eines Volumens des nach oben angeführten Regeln erhaltenen neuen Filtrats γ , welches 10 ccm. der ursprünglichen Lösung gleichkommt, von dem entsprechenden Volumen des Filtrats β , so erhält man den Stickstoffgehalt der Deuteroalbumose B.

Zur Fällung der Fraction IV (Deuteroalbumose C) wird das Filtrat γ mit reinstem krystallisirten feingepulverten Zinksulfat gesättigt. Damit sich das Salz vollständig auflöst, wird die gesättigte Flüssigkeit während zwei bis drei Stunden einer Temperatur von circa 40° ausgesetzt und dann an einem kalten Orte stehen gelassen. Nach vollständiger Sättigung der Flüssigkeit scheidet sich der Ueberschuss an Zinksulfat sehr schnell in Gestalt schöner Krystalle ab. Das Volumen der Lösung muss vor dem Eintragen des Zinksulfats wie auch nach erreichter Sättigung genau bestimmt werden. Beide Bestimmungen sind nöthig, um bei den Analysenberechnungen die geringe, durch Zusatz des Zinksulfats bewirkte Volumsteigerung des Filtrats γ berücksichtigen zu können. Der Unterschied zwischen dem Stickstoffgehalt des neuen, mit Zinksulfat gesättigten Filtrats δ und demjenigen des Filtrats γ ergibt den Stickstoffgehalt der Fraction IV (Deuteroalbumose C).

Die zunehmende Verdünnung der aufeinanderfolgenden

Filtrate sowie die fortschreitende, durch Ausfällen der Albumosen bedingte Abnahme an Stickstoffgehalt macht bei den Stickstoffbestimmungen für die späteren Filtrate die Verwendung einer entsprechend zunehmenden (bis zu 100 ccm. ansteigenden) Flüssigkeitsmenge erforderlich. Es ist daher nöthig, die Proben der Filtrate α , β , γ und δ zunächst im Wasserbad auf ein geringeres Volumen einzudampfen und dann erst nach dem Erkalten mit der Kjeldahl-Schwefelsäure zu versetzen. Die Gegenwart grösserer Mengen Zinksulfat hat den Nachtheil, die Oxydation etwas zu verlangsamen.

Ein kleiner Fehler wird anscheinend bei meinem Vorgehen dadurch eingeführt, dass das allerdings sehr geringe Volumen der verschiedenen Niederschläge gleich Null gesetzt wird. Nun ist aber das Volumen der Niederschläge, wenn man das imbibirte Wasser in Abzug bringt, dem Gesamtvolumen der Flüssigkeit gegenüber stets ein so geringes, dass der aus seiner Vernachlässigung hervorgehende Fehler in der Regel nur einige Tausendstel oder höchstens einige Hundertstel Procent erreicht und jedenfalls kleiner ist, als der Fehler, der sich aus den Schwierigkeiten, die Niederschläge völlig auszuwaschen, ergibt.

Als eine ernstlicher ins Auge zu fassende Fehlerquelle muss hingegen das oftmalige Abmessen kleiner Flüssigkeitsmengen angesehen werden, da die Abmessungsfehler bei der Berechnung der Stickstoffwerthe eine erhebliche Multiplication erfahren. Selbstverständlich ist der so entstandene Fehler bedeutender für die letzten Fractionen, als für die ersten. Ich habe ihn durch sorgfältiges Arbeiten und zahlreiche Kontrollanalysen auszumerzen gesucht. Jedenfalls habe ich eine sehr gute Uebereinstimmung meiner Analysen erreicht. Der Unterschied zwischen zwei Analysen des gleichen Filtrats betrug im Durchschnitt aus allen Vergleichsversuchen 0,367% (Max. = 0,876, Min. = 0,025) vom Gesamtstickstoff (dieser gleich 100 angenommen). Er muss mit den Fehlerquellen wachsen und wurde daher bei den Endfiltraten etwas grösser gefunden. Er betrug in den aufeinanderfolgenden Filtraten α , β , γ und δ 0,310, 0,189, 0,375, 0,561 % des Gesamtstickstoffes.

II. Versuche mit krystallisiertem Serumalbumin.

A. Die Albumosen.

20 g reines trockenes krystallisiertes Serumalbumin wurden in etwa 1500 ccm. Verdauungsflüssigkeit vertheilt. Nach 1½ Stunden ist das Serumalbumin bereits vollständig gelöst und nach zweistündiger Verdauung erhält man kein Neutralisationspräcipitat mehr. Von der Verdauungsflüssigkeit entnahm ich nach 2, 4, 8, 24, 48 und 72 Stunden Verdauungszeit genau 250 ccm. und untersuchte nach oben geschildertem Verfahren die Vertheilung des Stickstoffes auf die verschiedenen Albumosen. Um die angewandte Methodik zu veranschaulichen, gebe ich in nachstehender Tabelle die Ergebnisse des Einzelversuches, bei welchem die Verdauung nach 2 Stunden unterbrochen worden war.

Der Gesamtstickstoffgehalt in 10 ccm. Serumalbuminlösung ergab sich bei vier zu verschiedenen Zeitpunkten der Verdauung ausgeführten Analysen zu

$$\left. \begin{array}{l} 0,01967 \text{ g} \\ 0,01975 \text{ g} \\ 0,01978 \text{ g} \\ 0,01983 \text{ g} \end{array} \right\} \text{ also im Mittel } 0,01976 \text{ g.}$$

Tabelle I. (Nach zweistündiger Verdauung.)

Analysirte Lösung		Menge der Lösung ccm.	Gefunden N g	N auf 10 ccm. der ursprünglichen Lösung berechnet. ¹⁾ g	% N
Filtrat α	Analyse I	40	0,03101	0,016179	81,88
	Analyse II	40	0,03115	0,016252	82,25
	im Mittel	—	—	0,016216	82,06
Filtrat β	Analyse I	50	0,02463	0,015421	78,04
	Analyse II	50	0,02464	0,015427	78,07
	im Mittel	—	—	0,015424	78,06
Filtrat γ	Analyse I	100	0,01761	0,012866	65,11
	Analyse II	100	0,01763	0,012875	65,16
	im Mittel	—	—	0,012871	65,14

¹⁾ Je 20²⁰/₂₃, 31⁷/₂₃, 73¹/₂₃ 78¹/₁₀ ccm. der Filtrate α, β, γ, δ entsprechen genau 10 ccm. der ursprünglichen Serumalbuminlösung.

Analysirte Lösung		Menge der Lösung ccm.	Gefunden N g	N auf 10 ccm. der ursprünglichen Lösung berechnet. g	% N
Filtrat δ	Analyse I	100	0,01603	0,012520	63,36
	Analyse II	100	0,01610	0,012574	63,63
	im Mittel	—	—	0,012547	63,50

Aus dieser Tabelle (I) geht hervor, dass nach zweistündiger Verdauung die Lösung enthielt 100,00—82,06, also 17,94 % des Gesamtstickstoffes in den «primären» Albumosen, 82,06—78,06, also 4,00 % in der Deuteroalbumose A, 78,06—65,14, also 12,92 % in der Deuteroalbumose B, 65,14—63,50, also 1,64 % in der Deuteroalbumose C, also im Ganzen nur 36,50 % in den Albumosen überhaupt.

Um die Darstellung meiner Versuche nicht mehr wie nöthig auszudehnen, sollen in folgender Tabelle (II) die mit den anderen untersuchten Flüssigkeiten erzielten Ergebnisse nur in Procenten des Gesamtstickstoffs wiedergegeben werden.

Tabelle II.

Analysirte Lösung		% N		
		Analyse I	Analyse II	im Mittel
Nach 4stündiger Verdauung	Filtrat α	92,79	93,17	92,98
	» β	83,81	84,20	84,01
	» γ	75,26	75,60	75,43
	» δ	73,78	74,32	74,05
Nach 8stündiger Verdauung	Filtrat α	98,58	99,15	98,87
	» β	92,67	92,97	92,82
	» γ	77,03	77,55	77,29
	» δ	75,67	76,52	76,09
Nach 24stündiger Verdauung	Filtrat α	98,86	98,90	98,88
	» β	95,16	95,19	95,17
	» γ	90,30	91,11	90,70
	» δ	86,92	87,44	87,18

Analysirte Lösung		% N		
		Analyse I	Analyse II	im Mittel
Nach 48stündiger Verdauung	Filtrat α	99,20	99,40	99,30
	» $\beta^1)$	—	—	—
	» γ	98,05	98,18	98,11
	» δ	90,68	91,55	91,11
Nach 72stündiger Verdauung	Filtrat α	99,36	99,56	99,46
	» β	—	—	—
	» γ	98,96	99,16	99,06
	» δ	92,89	93,49	93,19

Wenn die Zahlen der letzten Columnne der Tabelle II, welche, wie in der Tabelle I dargelegt, den Stickstoffgehalt der verschiedenen Filtrate anzeigen, von einander in Abzug gebracht werden, so erhält man die den verschiedenen Albumosen in den einzelnen Phasen der Serumalbuminverdauung zugehörigen Stickstoffmengen.

Tabelle III.

Ver- dauungs- zeit	% N enthalten in					
	den «primären» Albumosen	der Deutero- albumose A	der Deutero- albumose B	der Deutero- albumose C	den gesamten Albumosen	den anderen Verdauungs- produkten
2 Stunden	17,94	4,00	12,92	1,64	36,50	63,50
4 »	7,02	8,97	8,58	1,38	25,95	74,05
8 »	1,13	6,05	15,53	1,20	23,91	76,09
24 »	1,12	3,71	4,47	3,52	12,82	87,18
48 »	0,70	0,00	1,19	7,00	8,89	91,11
72 »	0,54	0,00	0,40	5,87	6,81	93,19

Aus dieser Tabelle, besser noch aus der graphischen Darstellung in Tafel I lässt sich Zu- und Abnahme der einzelnen Fractionen, ausgedrückt durch ihren Stickstoffgehalt, ohne Weiteres entnehmen.

1) Es findet sich keine Spur von Deuteroalbumose A mehr; man muss das Filtrat α zu $\frac{9}{10}$ sättigen, um eine neue Trübung, die von der Fällung der Deuteroalbumose B herrührt, zu erzielen.

Die nach zweistündiger Verdauung verhältnissmässig in grosser Menge vorhandenen «primären» Albumosen nehmen bis gegen die achte Stunde schnell, hierauf sehr langsam ab und sind am dritten Tage des Verdauungsprocesses nur noch in geringer Menge vorhanden.¹⁾

Die Deuteroalbumose A ist nach zweistündiger Verdauung noch im schnellen Zunehmen begriffen und erreicht ihr Maximum nach vierstündiger Verdauung, dann tritt ein fast ebenso schnelles Absinken ein, das vor Ablauf von 48 Stunden zum völligen Verschwinden führt.

Die Deuteroalbumose B ist hingegen schon in der zweiten Stunde verhältnissmässig reichlich vorhanden, zeigt dann in der vierten Stunde bedeutende Abnahme, erreicht aber in der achten Stunde ein zweites Maximum. Dann nimmt ihre Menge bis zur 24. Stunde zuerst rasch, später langsam ab. Nach 3 tägiger Verdauung ist der zurückgebliebene Rest, wie auch bei den «primären» Albumosen, verschwindend gering.

Die Deuteroalbumose C ist in der 2. Stunde des Versuches in kleiner Menge vorhanden und bleibt der Menge nach ziemlich lange unverändert (die geringe Verminderung, welche nach 4- und 8stündiger Verdauung eintritt, überschreitet die Fehlergrenzen nicht); nach 24 Stunden erreicht sie ihr Maximum, sinkt dann sehr langsam ab und bleibt in verhältnissmässig grosser Menge bis zum Ende des Versuchs nachweisbar.

Zu beachten ist das Nichtzusammenfallen der den verschiedenen Fractionen zukommenden Maxima. Auch sind dieselben weit stärker bei den «primären» Albumosen und der Deuteroalbumose B ausgesprochen, als bei den Deuteroalbumosen A und C. Ein Blick auf Taf. I zeigt, dass man je nach dem Zeitpunkt, in welchem man die Verdauung unterbricht, sehr verschiedene Combinationen in der Vertheilung des Stickstoffes zwischen den verschiedenen Albumosen erreichen kann. Nach 2stündiger Verdauung gehört z. B. der grösste

¹⁾ Am Anfange waren vielleicht noch Spuren von Acidalbumin, die nur durch Einengen und Kochen zu beseitigen gewesen wären, in den Verdauungsflüssigkeiten vorhanden. Möglicher Weise ist sonach der für «primäre» Albumosen erhaltene Werth etwas zu hoch ausgefallen.

Theil des Albumosenstickstoffes den «primären» Albumosen, der geringste der Deuteroalbumose C an. Nach 4 Stunden zeigt sich letztere kaum vermehrt, hingegen findet sich ein Maximum bei Deuteroalbumose A. Nach 8 Stunden findet ein neuer Wechsel statt: Maximum und Minimum befinden sich in den Fractionen III und I (Deuteroalbumose B und «primäre» Albumosen), und so weiter.

Hieraus folgt, dass Bestimmungen der Verdauungsprodukte in einem willkürlich gewählten Zeitpunkte der Verdauung unmöglich eine Vorstellung über den Verlauf des Verdauungsvorgangs vermitteln können, und es erklärt sich von selbst, dass die Untersuchung käuflicher Verdauungspräparate meist nicht zu übereinstimmenden Zahlen führt. So ist z. B. Witte-Pepton von sehr wechselnder Zusammensetzung, was schon Neumeister¹⁾ hervorgehoben hat. Ich halte es deswegen für überflüssig, die in meinen Vorversuchen ermittelten Werthe eingehender mitzutheilen. Aus meinen Versuchsreihen (5 an der Zahl) geht hervor, dass vom Gesamtstickstoff des Witte-Peptons 20,06 bis 36,09% in den «primären» Albumosen, 4,02 bis 6,20% in der Deuteroalbumose A, 2,79 bis 11,46% in der Deuteroalbumose B, 10,10 bis 28,73% in der Deuteroalbumose C, im Ganzen 47,02 bis 69,33% in den Albumosen überhaupt vorhanden sind, während der Rest des Stickstoffs zum Theil auf Pepton, zum Theil auf andere stickstoffhaltige Substanzen entfällt. Diese Schwankungen sind ohne Zweifel zum grössten Theil davon abhängig, dass bei der Bereitung dieses Fabrikpräparats die Verdauung des Fibrins nicht in dem gleichen Stadium unterbrochen wird.

Ich erlaube mir ferner noch auf die rasche Abnahme des im Gesamtbestande der Albumosen enthaltenen Stickstoffes hinzuweisen; sie erfolgt um so langsamer, je länger die Verdauung gedauert hat. Nach zweistündiger Verdauung findet man in der Versuchsreihe der Tabelle III nicht viel mehr als ein Drittel des Gesamtstickstoffes in Gestalt von Albumosen.

¹⁾ R. Neumeister, Zur Kenntniss der Albumosen. Zeitschrift für Biologie, N. F., Bd. 5, 1887, S. 381.

B. Die Peptone.

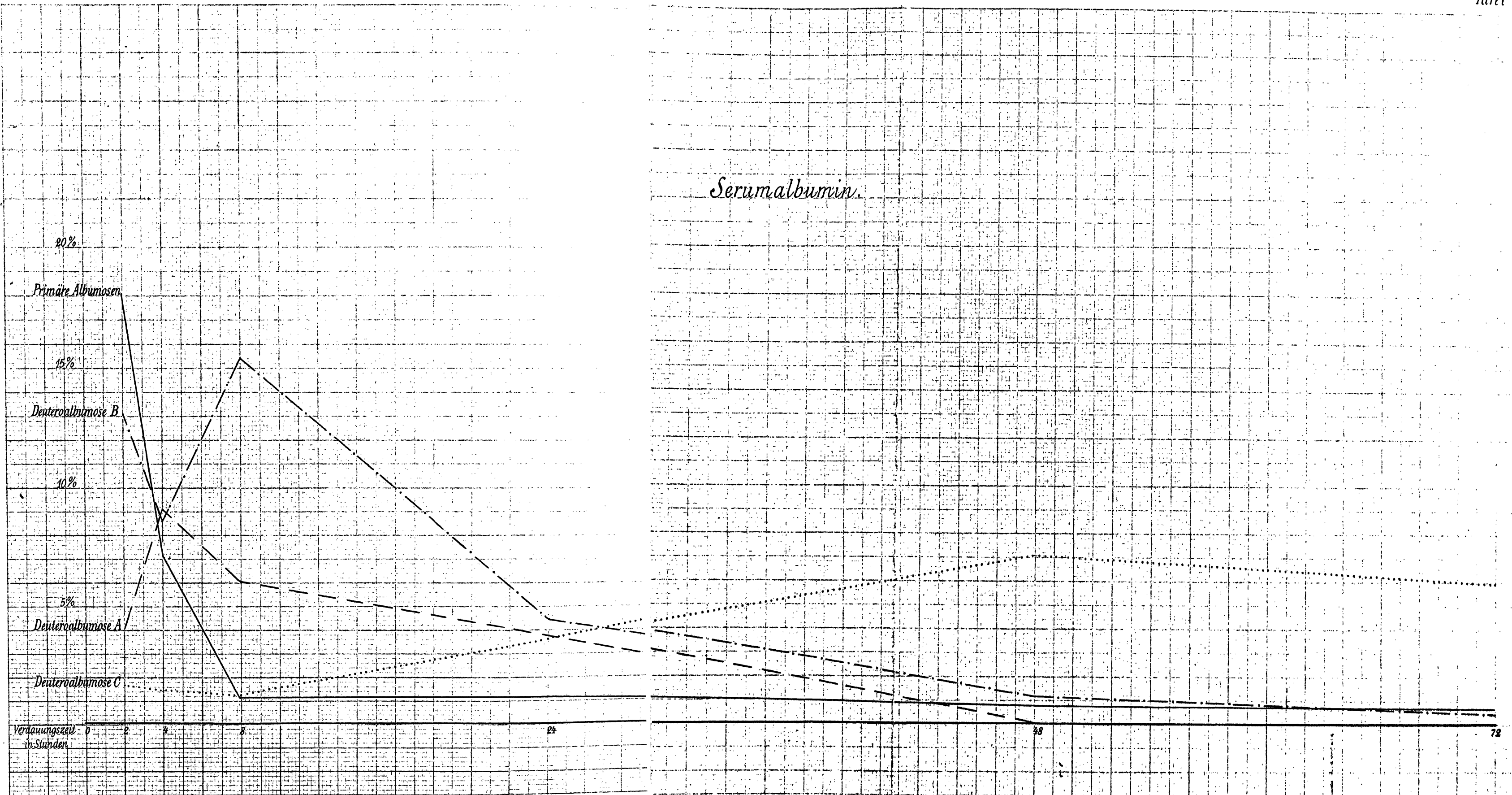
Interessant war es, zu wissen, in welchem Umfang die übrig bleibende stickstoffhaltige Substanz in Form von «Pepton», das heisst nicht durch Salz fällbarer, aber die Biuretreaction darbietender Produkte vorhanden war. Leider gibt es noch keine für den vorliegenden Fall brauchbare Methode, welche die getrennte vollständige Abscheidung der Peptone ermöglicht.

Das am häufigsten zur Fällung der Peptone benutzte Reagens, die Phosphorwolframsäure, ist zwar, wie Baumann und Bömer¹⁾ gezeigt haben, auch auf zinkhaltige Lösungen anwendbar. Allein einerseits fehlt der Nachweis, dass die Fällung der Peptone durch dieses Fällungsmittel eine vollständige ist (Neumeister²⁾ bestreitet dies sogar ganz entschieden), andererseits liegt die Möglichkeit vor, dass neben Pepton andere Spaltungsprodukte, z. B. Diaminosäuren, mitgefällt werden. Das erstangeführte Bedenken liess sich in meinen Versuchen leicht durch den Nachweis entkräften, dass in meinen Flüssigkeiten nach Ausfällung mit Phosphorwolframsäure jede Biuretreaction ausblieb. Hingegen konnte ich das zweite Bedenken nicht beseitigen, ja es fand in meinen Versuchen gewichtige neue Stützen.

Die Bestimmung des durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffs lässt sich in nachstehender Weise durchführen. Dem nach vollständiger Fällung der Albumosen erhaltenen Filtrat δ (siehe Tabellen I und II) wird, nach dem Beispiele von Baumann und Bömer, die Hälfte seines Volumens an verdünnter Schwefelsäure (1 Volumen concentrirte Schwefelsäure, 4 Volumina Wasser) und dann eine genügende Menge wässriger Lösung von Phosphorwolframsäure hinzugefügt. Die hierdurch erhaltene trübe Flüssigkeit lässt man erst 4 bis 6 Stunden bei einer Temperatur von 40° , hierauf ein bis zwei Tage an einem Ort bei niedriger Temperatur stehen, worauf mit üblicher Vorsicht filtrirt werden kann. Das klare Filtrat (Filtrat ϵ) ist blassviolett gefärbt und trübt sich nicht mehr auf Zusatz eines Tropfens der Phosphorwolframsäurelösung. Selbstverständlich muss das Volumen des Filtrats δ vor und nach Zugabe der

1) K. Baumann und A. Bömer, l. c.

2) R. Neumeister, Ueber die Reactionen der Albumosen und Peptone. Zeitschrift für Biologie, N. F., Bd. VIII, 1890, S. 340.



verdünnten Schwefelsäure und der Phosphorwolframsäure festgestellt werden. Der Stickstoffgehalt des Filtrats ϵ wird nun nach Kjeldahl bestimmt. Wie Hausmann¹⁾ mit Recht bemerkt, wird die Oxydation der zu analysirenden Flüssigkeiten durch die Anwesenheit von Phosphorwolframsäure ziemlich erschwert. Seinem Beispiel folgend vollführte ich die Oxydation in Literflaschen aus Jenaer Glas, welche später zugleich zum Abdestilliren dienten. Die zu untersuchende Flüssigkeit (in der Regel 250 ccm.) wird zuerst auf ein geringes Volumen eingeeengt, dann mit einer grossen Menge Kjeldahl-Schwefelsäure vermischt, bis zur Schwarzfärbung erhitzt, erkalten gelassen, dann mit etwas übermangansaurem Kali versetzt und nach 24stündigem Stehen neuerlich 8 bis 10 Stunden erhitzt. Nach Beendigung der Oxydation enthält die Probe einen reichlichen gelben Niederschlag (Wolframtrioxyd). Das Abdestilliren und Titriren geschieht in üblicher Weise. Wegen der geringen Menge der nach Bestimmung des Stickstoffes übrigbleibenden Flüssigkeit δ war es mir unmöglich, in allen Fällen so viel vom Filtrat ϵ zu erhalten, dass ich mehr als eine Analyse hätte vornehmen können. Tabelle IV enthält die ermittelten Ergebnisse.

Tabelle IV.

Verdauungs- zeit	N des Filtrats ϵ in Procent des Gesamt-N		
	Analyse I	Analyse II	im Mittel
2 Stunden	61,14	—	—
4 »	62,47	—	—
8 »	55,70	—	—
48 »	54,40	54,69	54,54
72 »	33,91	35,69	34,80

Durch Subtraction dieser Werthe von den im Filtrat δ gefundenen, erhält man die im Phosphorwolframsäureniederschlag verbliebene Stickstoffmenge. Der besseren Uebersicht wegen ist in folgender Tabelle (V) der Stickstoffgehalt der Albumosen, der durch Phosphorwolframsäure ausgefällten Körper und der letzten Filtrate (ϵ) nebeneinander gestellt.

1) W. Hausmann, Ueber die Vertheilung des Stickstoffs im Eiweissmolekül. Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. XXVII, 1899, S. 99.

Tabelle V.

Verdauungs- zeit.	Von 100 N des Serumalbumins ist		
	durch Zinksulfat fällbar (Albumosen) %	durch Phosphor- wolframsäure fällbar (Peptone, u. s. w.) %	weder durch Zink- sulfat noch durch Phosphorwolfram- säure fällbar %
2 Stunden	36,50	2,36	61,14
4 „	25,95	11,58	62,47
8 „	23,91	20,39	55,70
24 „	12,82	—	—
48 „	8,89	36,57	54,54
72 „	6,81	58,39	34,80

Aus dieser Tabelle ersieht man mehrere auffallende That-
sachen: Während die durch Phosphorwolframsäure fällbare,
im Beginn des Verdauungsprocesses sehr geringe Stickstoff-
menge rasch zunimmt und nach dreitägiger Verdauung beinahe
 $\frac{3}{5}$ des Gesamtstickstoffs des Serumalbumins beträgt, bleibt
die durch Phosphorwolframsäure nicht fällbare Stickstoffmenge,
die schon nach zweistündiger Verdauung mehr als $\frac{3}{5}$ des
Gesamtstickstoffs entspricht, zuerst unverändert, nimmt dann
aber zwischen der 4. und 8. Stunde des Verdauungsprocesses
ab und sinkt schliesslich nach 72 Stunden nahezu auf $\frac{1}{3}$ des
Gesamtstickstoffs herab.

Nach zweistündiger Verdauung ist sonach in meinem
Versuche sicher nur wenig Pepton entstanden, und mehr als
die Hälfte des gesammten Eiweisstickstoffs findet sich in
Biuretreaction nicht gebenden Substanzen. Später erfolgt zwar
augenscheinlich eine Vermehrung der Peptone durch Neu-
bildung aus den vorhandenen Albumosen, doch lässt sich nicht
feststellen, in welchem Umfang das geschieht. Der Vergleich
der in den Columnen 3 und 4 der Tabelle V angeführten Werthe
zeigt nämlich, dass die Zunahme des durch Phosphorwolfram-
säure fällbaren Stickstoffs von der 48. Stunde ab zum grössten
Theile auf eine Umwandlung der nicht albumosen- oder pepton-

artigen Stoffe in durch Phosphorwolframsäure fällbare Produkte zu beziehen ist. Nach den gefundenen Zahlen lässt sich im besten Fall die Menge des in Form von Pepton vorhandenen Stickstoffs auf etwa 30% des Gesamtstickstoffs veranschlagen.

Wenn, nach sorgfältiger Ausfällung des im Filtrat ε enthaltenen Zinks durch tropfenweise zugesetzte Natronlauge, der Flüssigkeit vorsichtig Gerbsäurelösung zugefügt wird, erhält man einen Niederschlag, welcher sich in einem Ueberschuss des Reagens wieder auflöst. Eine mit Zinksulfat gesättigte Jodjodkaliumlösung erzeugt ebenfalls im Filtrat ε ausgesprochene Trübung.

Ein sehr erheblicher Theil der die Biuretreaction nicht gebenden Verdauungsprodukte ist also durch Alkaloidreagentien fällbar. Angesichts dieser Thatsache liegt die Frage nahe, ob sich diese die Biuretreaction nicht gebenden Körper bereits bei Beginn des Verdauungsprocesses in beträchtlichem Maasse bilden oder erst secundär aus den die Biuretreaction gebenden Verdauungsprodukten (Albumosen und Peptonen) entstehen.

Um diese Frage zu beantworten, habe ich meine Versuche in der Art ergänzt, dass ich coagulirtes Serumalbumin $\frac{1}{2}$, 1 und 2 Stunden der Verdauung unterwarf, dann mit Zinksulfat in oben beschriebener Weise ausfällte und einerseits den Stickstoffgehalt der Flüssigkeit vor und nach der Fällung verglich, andererseits das albumosenfreie Filtrat mittelst der Biuretprobe auf Pepton untersuchte.

Bereits nach einer halben Stunde war der grösste Theil des Serumalbumins in Lösung gegangen. Doch war noch nach 2 Stunden in der Verdauungsflüssigkeit ein geringer ungelöster Rest vorhanden, wahrscheinlich weil diesmal mehr Serumalbumin auf die gleiche Flüssigkeitsmenge genommen worden war, als im ersten Versuche.

Nach Entfernung des ungelösten Serumalbumins durch Filtriren bestimmte ich den Stickstoffgehalt in 10 ccm. Lösung. Die Verdauungsflüssigkeit wurde dann mit verdünnter Natronlauge sorgfältig neutralisirt, hierauf, wie gewöhnlich, mit Schwefelsäure angesäuert, schliesslich mit feingepulvertem reinen krystallisirten Zinksulfat gesättigt. Nach genügendem Stehenlassen wurde filtrirt und der Stickstoffgehalt in einer 10 ccm. der ursprünglichen Serumalbuminlösung entsprechenden Menge Filtrat bestimmt. In folgender Tabelle sind die ermittelten Werthe zusammengefasst.

Tabelle VI.

Verdauungszeit	% N enthalten in		Biuretreaction im albumosen- freien Filtrat
	dem Acidalbumin und den Albumosen	den anderen Ver- dauungsprodukten	
$\frac{1}{2}$ Stunde	69,02	30,98	negativ
1 »	71,05	28,95	negativ
2 »	61,60	38,40	schwach positiv

Die Menge des nach einstündiger Verdauung erhaltenen Neutralisationspräcipitates war etwas grösser als diejenige, welche mit der nach einer halben Stunde gewonnenen Verdauungsflüssigkeit erhalten wurde. Nach 2stündiger Verdauung gab die Flüssigkeit nur noch ein sehr geringes Neutralisationspräcipitat; der gefundene Stickstoffwerth der 2. Columnne entspricht somit annähernd dem Albumosenstickstoff. Peptone waren nur in der Probe mit zweistündiger Verdauungszeit vorhanden, während sich die Biuretreaction nicht darbietende Produkte schon nach halbstündiger Digestion reichlich (gegen 30% des Gesamtstickstoffs) finden. Man sieht sonach, dass sehr bald nach Beginn der peptischen Spaltung in bedeutender Menge Verdauungsprodukte auftreten können, denen die Biuretreaction fehlt. Die betreffenden, nach Fällung der Albumosen gewonnenen Filtrate gaben, nachdem sie von ihrem Zinkgehalt befreit worden waren, mit Gerbsäure einen flockigen Niederschlag, welcher sich in einem Ueberschuss des Reagens wieder auflöste.

Man bemerkt, dass die Menge der nach 2stündiger Verdauung gewonnenen, durch Zinksulfat nicht fällbaren Verdauungsprodukte in der Tabelle VI viel geringer ausgefallen ist als in der ersten Versuchsreihe (Tabellen I bis V). Der Grund liegt auch hier wahrscheinlich in der Verwendung einer relativ grösseren (beinahe doppelten) Eiweissmenge und einem entsprechend langsameren Verlauf der Verdauung.

C. Das zeitliche Auftreten und Verschwinden der einzelnen Produkte.

Um das zeitliche Auftreten der Verdauungsprodukte des Serumalbumins genauer zu bestimmen, habe ich eine 2,1 g

in 100 cc. enthaltende Probe mehrere Tage hindurch der Verdauung unterworfen, davon in bestimmten Intervallen kleinere Antheile entnommen und qualitativ auf die Anwesenheit der Albumosenfractionen geprüft. Jede Probe wurde sorgfältig mit verdünnter Natronlauge neutralisirt und, falls ein Niederschlag von Acidalbumin entstand, durch Filtriren davon getrennt. Nun wurde die neutrale Flüssigkeit wie in den früheren Versuchen angesäuert, dann auf « primäre » Albumosen durch Zusatz eines gleichen Volumens gesättigter angesäuerter Zinksulfatlösung, das Filtrat davon auf Deuteroalbumose A durch Zusatz eines halben Volumens, das Filtrat hiervon auf Deuteroalbumose B durch Zusatz von $\frac{4}{3}$ des Volumens der gleichen Lösung, endlich das letzte Filtrat auf Deuteroalbumose C durch Sättigung mit feingepulvertem, reinstem krystallisirten Zinksulfat geprüft. Im Filtrat von C wurde mit Hilfe der Biuretreaction auf Pepton gefahndet. Das Ergebniss der Versuchsreihe ist in Tabelle VII zusammengefasst. Da die unter Einhaltung gleicher äusserer Bedingungen erhaltenen Niederschläge oder Trübungen direkt mit einander verglichen werden konnten, so war unschwer für jede Fraction der Zeitpunkt zu bestimmen, in welchem sie in grösster Menge vorhanden war. Die betreffenden Proben sind in der Tabelle als Maxima (Max.) hervorgehoben.

Tabelle VII.

Verdauungszeit	Neutralisationspräcipitat (Acidalbumin)	« Primäre » Albumosen	Deuteroalbumose A	Deuteroalbumose B	Deuteroalbumose C	Peptone
$\frac{1}{2}$ Stunde	Positiv	Spuren	Positiv	Positiv	Negativ	Negativ
1 »	» (Max.)	Positiv	Spuren	»	Spuren	Spuren
$1\frac{1}{2}$ »	»	»	Positiv	»	Positiv	Positiv
2 Stunden	Negativ	» (Max.)	» (Max.)	» (Max.)	»	»
1 Tag	»	»	»	»	»	»
2 Tage	»	»	Spuren	»	»	»
3 »	»	Spuren	Negativ	Spuren	» (Max.)	»
4 »	»	Negativ	»	»	»	»
5 »	»	»	»	Negativ	»	»
6 »	»	»	»	»	»	»
7 »	»	»	»	»	Spuren	»
8—16 Tage	»	»	»	»	»	»

Das Serumalbumin war nach 2 Stunden vollständig gelöst.

Wie man sieht, ist schon $\frac{1}{2}$ Stunde nach Beginn der Verdauung die Gegenwart von Acidalbumin, «primären» Albumosen und Deuteroalbumosen A und B nachweisbar. Deuteroalbumose B tritt dabei sofort in fast ebenso grosser Menge auf wie das Acidalbumin, hingegen ist nur wenig Deuteroalbumose A und nur eine Spur von «primären» Albumosen zu finden. Deuteroalbumose C und Peptone fehlen. Das Filtrat von B, von seinem Zinkgehalt befreit, gibt nach Zutropfen von Gerbsäure einen Niederschlag von die Biuretreaction nicht gebenden Verdauungsprodukten. Nach einstündiger Verdauung zeigt sich bei dem Acidalbumin, den «primären» Albumosen und der Deuteroalbumose B merkliche Zunahme, während nur noch Spuren von Deuteroalbumose A zu finden sind. Das Acidalbumin überwiegt bei Weitem, dann kommt Deuteroalbumose B; von Deuteroalbumose C und Peptonen sind nur Spuren vorhanden. Das Acidalbumin, welches nach einstündiger Verdauung das Maximum erreicht hat, ist nach der zweiten Verdauungsstunde schon verschwunden, jedenfalls kommt nach diesem Zeitpunkt ein Neutralisationspräcipitat nicht mehr zu Stande. Die Deuteroalbumose A, von der nach einer Stunde nur noch Spuren übrig geblieben sind, erscheint dann vermehrt, erreicht ihr Maximum vor Ablauf des ersten Tages und verschwindet vollständig zwischen dem zweiten und dritten Tag. (Im früheren Versuche, in welchem ein geringerer Eiweissgehalt gewählt war, verschwand die Deuteroalbumose A sogar vor Ablauf des zweiten Tages.) Vielleicht gibt es bei der Deuteroalbumose A wie bei der Deuteroalbumose B (vergl. Tabelle III) zwei Maxima. Die «primären» Albumosen verschwinden zwischen dem dritten und vierten, die Deuteroalbumose B zwischen dem vierten und fünften Tag. Die Deuteroalbumose C und die Peptone, die, wie oben ersichtlich, erst nach einstündiger Verdauung erscheinen, finden sich noch am Schlusse einer 16 tägigen Verdauungsperiode; sie müssen also als Endprodukte der Serumalbuminverdauung angesehen werden, abgesehen von den die Biuretreaction nicht gebenden stickstoffhaltigen Körpern. In vorstehender Versuchsreihe

(Tabelle VII) wurde die grösste Menge von Deuteroalbumose C am dritten, in der ersten Versuchsreihe (Tabelle III) am zweiten Tag beobachtet. Nach dem 7. Tag fanden sich nur noch Spuren von C vor, welche aber an den folgenden Tagen unvermindert blieben.

D. Bildung von Amidstickstoff.

Endlich habe ich untersucht, ob während der peptischen Verdauung des Serumalbumins Ammoniak oder ein Ammoniak leicht abspaltendes Produkt auftritt. Zu diesem Zweck wurde Serumalbumin der Verdauung in einer Pepsin-Salzsäurelösung unterworfen, deren unbedeutender Ammoniakgehalt vorher durch Destillation mit Magnesia ermittelt war,¹⁾ und, nachdem die Lösung vollkommen klar geworden (was in diesem Versuche nach 1½ Stunden eintrat), bestimmte ich den in 10 ccm. dieser Lösung enthaltenen Gesamtstickstoff, sodann an einer Anzahl in verschiedenen Verdauungsperioden entnommenen Proben den während der Digestion gebildeten, durch Magnesia austreibbaren Stickstoff. Bei der Berechnung dieses «Amidstickstoffs» in Procenten des Gesamtstickstoffs ist die in 10 ccm. Pepsinsalzsäurelösung vor Anfang der Verdauung enthaltene geringe Menge Ammoniakstickstoff vom Gesamtstickstoff der Serumalbuminlösung stets in Abzug gebracht. Ich erhielt so die in folgender Tabelle VIII zusammengestellten Resultate.

Tabelle VIII.

Verdauungs- zeit	Amidstickstoff in % des Gesamtstickstoffs		
	Analyse I	Analyse II	Im Mittel
2 Stunden	0,53	0,71	0,62
2 Tage	1,24	1,33	1,28
6 »	1,95	2,12	2,03
15 »	2,03	2,12	2,07

¹⁾ Die Magnesia wurde zuerst, wie von Hausmann (l. c. S. 98) empfohlen, in kleinen Portionen geglüht, dann mit Wasser in einen Destillirkolben gebracht und längere Zeit im Sieden erhalten; jede Spur

Wie ersichtlich bildet sich während der Verdauung des Serumalbumins eine geringe, allmählich bis zu $\frac{1}{50}$ des Gesamtstickstoffs ansteigende und nach dem 6. Tag des Verdauungsprocesses nicht mehr merklich zunehmende Menge von durch Magnesia austreibbarem Stickstoff. Ob dieser Stickstoff neugebildetem Ammoniak entspricht oder aber dem Stickstoff von Säureamiden, welche schon bei Destillation mit Magnesia Ammoniak abgeben, wurde nicht untersucht. Jedenfalls entspricht dieser aus Eiweiss so leicht erhältliche Stickstoff einem Theile des beim Kochen der Eiweisskörper mit Säuren zur Abspaltung gelangenden, den Hausmann als Amidstickstoff bezeichnet hat. Dies der Grund, warum ich die gleiche Bezeichnung angewandt habe. Bemerkenswerth ist, dass die auf diese Weise ermittelte Zahl (2,07) ungefähr ein Drittel des durch Hausmann¹⁾ bei Spaltung des Serumalbumins mit siedender concentrirter Salzsäure gefundenen Amidstickstoffs (6,34% des Gesamtstickstoffs) darstellt.

III. Versuche mit Casein.

Die Versuche mit Casein wurden in ganz ähnlicher Weise wie jene mit Serumalbumin durchgeführt.

Die Caseinmenge war so gewählt, dass die Verdauungsflüssigkeit nach erfolgter Lösung in 10 ccm.

0,03835 g	} im Mittel 0,0385 g Stickstoff enthielt.
0,03857 „	
0,03858 „	

Drei Stunden nach Ansetzen des Verdauungsversuches ist das Casein vollständig aufgelöst; die Lösung behält jedoch eine opalescirende Beschaffenheit. Nach 4stündiger Verdauung bleibt das Neutralisationspräcipitat aus. Nach 4, 8, 24, 48 und 72 Stunden Verdauung wurde jedesmal ein Volumen von genau 100 ccm. entnommen und darin die Vertheilung des Stickstoffs auf die verschiedenen Albumosen und die durch Phosphorwolframsäure fällbaren und nicht fällbaren Ver-

von etwa vorhandenem Ammoniak ist dann sicher vertrieben. Die übrigbleibende geringe Flüssigkeitsmenge lässt man nun erkalten und nach Zusatz der zu prüfenden Lösung erhitzt man sorgfältig das Gemisch und fängt das freigewordene Ammoniak in $\frac{1}{10}$ normaler Schwefelsäure auf.

¹⁾ W. Hausmann, l. c., S. 105.

dauungsprodukte untersucht. Um unnöthige Weitschweifigkeit zu vermeiden, beschränke ich mich darauf, in folgender Tabelle (IX) die aus den verschiedenen Analysen hervorgehenden, in Procenten des Gesamtstickstoffs berechneten Zahlen aufzuführen.

Tabelle IX.

Analysirte Lösung		% N		
		Analyse I	Analyse II	im Mittel
Nach 4 Stunden Verdauung	Filtrat α	76,09	76,20	76,14
	» β	75,64	75,73	75,68
	» γ	56,27	56,47	56,37
	» δ	53,01	53,84	53,42
	» ε	50,36	50,99	50,67
Nach 8 Stunden Verdauung	Filtrat α	83,58	83,77	83,67
	» β	77,15	77,34	77,24
	» γ	58,67	59,30	58,98
	» δ	55,24	56,09	55,66
	» ε	—	—	—
Nach 24 Stunden Verdauung	Filtrat α	92,40	92,76	92,58
	» β	84,36	84,57	84,46
	» γ	72,43	72,70	72,56
	» δ	62,27	62,42	62,34
	» ε	55,94	57,98	56,96
Nach 48 Stunden Verdauung	Filtrat α	94,94	95,52	95,23
	» β	88,43	88,52	88,47
	» γ	75,87	76,53	76,20
	» δ	70,15	70,56	70,35
	» ε	65,80	—	—
Nach 72 Stunden Verdauung	Filtrat α	96,12	96,49	96,30
	» β	94,74	95,13	94,93
	» γ	82,80	83,07	82,93
	» δ	79,76	80,10	79,93
	» ε	65,24	—	—

Aus diesen Zahlen berechnen sich für die einzelnen Fractionen nachstehende Stickstoffwerthe.

Tabelle X.

Ver- dauungs- zeit	% N enthalten in							
	den Albumosen					den anderen Verdauungs- produkten		
	«Primäre» Albu- mosen	Deutero- albumose A	Deutero- albumose B	Deutero- albumose C	Ge- sammt- menge	durch Phosphor- wolfram- säure fällbar	durch Phosphor- wolfram- säure nicht fällbar	Ge- sammt- menge
4 Stunden	23,86	0,46	19,31	2,95	46,58	2,75	50,67	53,42
8 »	16,33	6,43	18,26	3,32	44,34	—	—	55,66
24 »	7,42	8,12	11,90	10,22	37,66	5,38	56,96	62,34
48 »	4,77	6,76	12,27	5,85	29,65	4,55	65,80	70,35
72 »	3,70	1,37	12,00	3,00	20,07	14,69	65,24	79,93

In Tafel II finden sich die auf Albumosen bezüglichen Zahlen graphisch verzeichnet.

Im Allgemeinen entsprechen diese Resultate den beim Serumalbumin gefundenen, wenn man dem weit trägeren Verlauf der Verdauung beim Casein Rechnung trägt. Der Stickstoff im Gesamtbestand der Albumosen vermindert sich Anfangs sehr schnell, beträgt nach 4stündiger Verdauung nicht mehr ganz die Hälfte, nach dem dritten Tage nur noch ein Fünftel des Gesamtstickstoffs. Auch bezüglich des Caseins gilt die Beobachtung, dass die Maximalmengen der verschiedenen Albumosen nicht zusammenfallen, und dass die Summe der «primären» Albumosen, sowie die Deuteroalbumose B ein höheres Maximum aufweisen als die Deuteroalbumosen A und C. Endlich entstehen auch hier schon nach 4stündiger Verdauung reichlich die Biuretreaction nicht mehr gebende, aber zum Theil durch Gerbsäure fällbare Verdauungsprodukte, deren Menge bis zur 48. Stunde zunimmt, dann während der folgenden 24 Stunden unverändert bleibt. Die durch Zinksulfat nicht mehr, wohl aber durch Phosphorwolframsäure fällbaren Verdauungsprodukte sind immer in sehr kleiner Menge vorhanden, wenn sie sich auch allmählich vermehren, und da die Peptone nur einen Theil dieser Körper bilden, so erscheint hier die verhältnissmässig spärliche Bildung von Peptonen noch auf-

fallender wie beim Serumalbumin. In Betreff der Albumosen sehen wir wiederum, dass im Anfang die «primären» Albumosen und die Deuteroalbumose B vorwiegen, während die Deuteroalbumosen A und C nur in kleineren Mengen auftreten. Die Summe der «primären» Albumosen und die Deuteroalbumose B sind von der 4. Stunde ab im Abnehmen, die Deuteroalbumosen A und C im Zunehmen begriffen. Die Abnahme der «primären» Albumosen ist im Laufe des ersten Tags eine erhebliche, später eine langsamere. Die nach 4stündiger Verdauung nur in Spuren vorhandene Deuteroalbumose A steigt ihrer Menge nach in kurzer Zeit an und sinkt dann fast ebenso schnell, nachdem sie etwa in der 24. Stunde ihr Maximum erreicht hat. Zwischen der 24. und 72. Stunde scheint die Deuteroalbumose B quantitativ unverändert zu bleiben, denn die eintretende, sehr geringe Zunahme fällt innerhalb der Fehlergrenzen. Abweichend von den Erfahrungen am Serumalbumin gestaltet sich das Verhalten der Deuteroalbumose C. Sie fand sich hier schon nach 4stündiger Verdauung in grösserer Menge als Deuteroalbumose A, erreichte ihr Maximum in gleicher Zeit wie A, zeigte hierauf ein schnelles Absinken, blieb jedoch nach 72 Stunden in grösserer Menge als A zurück. Während beim Serumalbumin am Schluss des Versuches die Deuteroalbumose C weitaus an Menge die anderen Albumosen übertraf, fand sich beim Casein dasselbe Verhalten bei der Deuteroalbumose B.

In einem nach 2 Stunden unterbrochenen Verdauungsversuch erwiesen sich 83,43% des Gesamtstickstoffs in Acidalbumin und Albumosen enthalten; der Rest von 16,57% war in Spuren von Peptonen, zum grössten Theil aber in die Biuretreaction nicht mehr gebenden Verdauungsprodukten enthalten. Das nach vollkommener Fällung der Albumosen durch Zinksulfat gewonnene Filtrat gab in der That eine äusserst schwache Biuretreaction, enthielt aber durch Gerbsäure fällbare Stoffe. Es lieferte sonach auch das Casein, anscheinend sehr frühzeitig, allerdings in geringerem Maasse als das Serumalbumin, Verdauungsprodukte, welche die Biuretreaction nicht mehr gaben.

Ein anderer, nach 6 tägiger Verdauung unterbrochener

Versuch ergab, dass nur noch 16,95% des Caseinstickstoffes in Form von Albumosen, die übrigen 83,05% in Form von Peptonen und anderen Verdauungsprodukten vorhanden waren.

Ferner habe ich mit einer 2%igen Caseinlösung eine in folgender Tabelle (XI) zusammengefasste qualitative Versuchsreihe zur Ermittlung der Anfangs- und Endprodukte der Caseinverdauung durchgeführt. Das Casein wurde dabei bereits nach 2 1/2 Stunden vollkommen aufgelöst gefunden.

Tabelle XI.

Verdauungszeit	Neutralisationspräcipitat (Acidalbumin)	« Primäre » Albumosen	Deuteroalbumose A	Deuteroalbumose B	Deuteroalbumose C	Peptone
1/2 Stunde	positiv	positiv	positiv	negativ	Spuren	negativ
1 »	»	»	»	positiv	»	»
1 1/2 Stunden	» (Max.)	» (Max.)	»	»	positiv	Spuren
2 »	»	»	»	»	»	»
2 1/2 »	»	»	»	»	»	»
3 »	»	»	»	»	»	positiv
3 1/2 »	negativ	»	»	» (Max.)	»	»
4 »	»	»	»	»	»	»
6 »	»	»	» (Max.)	»	» (Max.)	»
2 Tage	»	»	»	»	»	»
4 »	»	»	»	»	»	»
6 »	»	»	Spuren	Spuren	»	»
8 »	»	»	»	negativ	»	»
10 »	»	»	»	»	»	»
12 »	»	»	negativ	»	»	»
14 »	»	»	»	»	»	»
16 »	»	»	»	»	»	»
18 »	»	Spuren	»	»	»	»
20 »	»	»	»	»	»	»
22 »	»	»	»	»	»	»
24 »	»	»	»	»	»	»
26 »	»	»	»	»	»	»
28 »	»	»	»	»	»	»

Aus dieser Tabelle (XI) geht hervor, dass sogleich bei Beginn der Caseinverdauung neben Acidalbumin eine beträcht-

liche Menge von «primären» Albumosen, ein geringeres Quantum der Deuteroalbumose A und Spuren von Deuteroalbumose C auftreten. Deuteroalbumose B und Peptone sind noch nicht vorhanden, während doch schon in dem von Albumosen und Zinksulfat befreiten Filtrat die Gerbsäure einen Niederschlag erzeugt. Das Acidalbumin erreicht sein Maximum nach $1\frac{1}{2}$ Stunden und verschwindet vollständig nach $3\frac{1}{2}$ Stunden. Bei den «primären» Albumosen und dem Acidalbumin treffen die Maxima zusammen, dann sinkt die Menge der «primären» Albumosen allmählich, aber noch nach 28 tägiger Verdauung sind sie in Spuren nachweisbar. Die Deuteroalbumose A erreicht ihr Maximum nach 6 stündiger Verdauung, nach 6 Tagen bleiben von ihr nur noch Spuren übrig, die dann zwischen dem 10. und dem 12. Tage der Verdauung endgültig verschwinden. Hingegen erscheint die Deuteroalbumose B sofort nach der ersten Stunde; sie erreicht ihr Maximum nach $3\frac{1}{2}$ Stunden, ist nach 6 Tagen nur noch in Spuren nachweisbar und verschwindet vollständig vor Ende des 8. Tages. Die Deuteroalbumose C, welche sofort bei Beginn der Verdauung auftritt, erscheint in ansehnlicher Menge erst nach $1\frac{1}{2}$ Stunden, erreicht das Maximum nach 6 Stunden, zeigt alsdann zunächst ein schnelles und später bis zum 20. Tag ein langsames Absinken; schliesslich bleibt von ihr noch am 28. Tag eine geringe Menge zurück. Die Peptone erscheinen nach $1\frac{1}{2}$ Stunden Verdauung, jedoch nur in Spuren. Erst von der dritten Stunde ab sind sie in ansehnlicher Menge vorhanden.

Zu bemerken ist, dass man bei der Caseinverdauung die zwei Maxima vermisst, welche bei der Serumalbuminverdauung sicher für die Deuteroalbumose B nachweisbar sind. Alexander¹⁾ hat als Hauptbestandtheil im Gemenge der «primären» Albumosen des Caseins Protalbumose gefunden, daneben nur ganz geringe Mengen einer Substanz vom Verhalten der Heteroalbumose. Nach seiner Ansicht ist auch das reinste bisher darstellbare Casein noch durch eine kleine Menge

1) F. Alexander, Zur Kenntniss des Caseins und seiner peptischen Spaltungsprodukte. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXV, 1898, S. 411.

eines albuminatähnlichen Eiweisskörpers verunreinigt, dem möglicher Weise das Auftreten einer geringen Menge von Heteroalbumose zuzuschreiben ist. Seitdem ist es Wróblewski¹⁾ in der That gelungen, aus der Milch einen neuen Eiweisskörper, den er Opalisin nennt, zu isoliren, und es ist denkbar, dass die von Alexander gefundene geringe Menge Heteroalbumose von diesem Körper abstammt. Es könnte auch sein, dass die Abwesenheit des Heteroalbumosencomplexes im Caseinmolekül auch die Abwesenheit einer zweiten, aus der Heteroalbumose hervorgehenden Deuteroalbumose B bedingt, und dass die zwei bei der Deuteroalbumose B des Serumalbumins beobachteten Maxima der Gegenwart zweier verschiedener B-Albumosen zuzuschreiben sind.

Die Anfangs- und Endprodukte der Verdauung sind bei Serumalbumin und Casein etwas verschieden. In dem einen wie in dem anderen Fall findet man nach der ersten halben Stunde « primäre » Albumosen, Deuteroalbumose A und die Biuretreaction nicht gebende Verdauungsprodukte, während Peptone noch fehlen. Erscheint aber beim Serumalbumin die Deuteroalbumose B ohne C, so entsteht aus Casein die Deuteroalbumose C ohne B. In beiden Fällen finden wir als Endprodukte Peptone und Deuteroalbumose C, daneben beim Casein Spuren von « primären » Albumosen. Das Acidalbumin verschwindet immer vor jedem anderen Verdauungsprodukt; bei der Serumalbuminverdauung erfolgt sodann ein allmähliches Abnehmen zuerst der Deuteroalbumose A, dann der « primären » Albumosen und endlich der Deuteroalbumose B, während bei der Caseinverdauung die Deuteroalbumose B vor A verschwindet.

Gleich wie bei dem Serumalbumin bestimmte ich in einer 2%igen Caseinlösung durch Abdestilliren mit Magnesia den locker gebundenen, während der peptischen Verdauung auftretenden Stickstoff.

¹⁾ A. Wróblewski, Ein neuer eiweissartiger Bestandtheil der Milch. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXVI, 1898, S. 308.

Tabelle XII.

Verdauungszeit	Amidstickstoff in % des Gesamtstickstoffs		
	Analyse I	Analyse II	im Mittel
6 Stunden	0,14	0,37	0,25
3 Tage	2,08	2,08	2,08
6 „	2,55	2,58	2,56
15 „	3,76	3,90	3,83

Wie ersichtlich, ist die im Laufe der Caseinverdauung entstehende Amidstickstoffmenge Anfangs sehr gering; sie erfährt alsdann langsame Zunahme und erreicht nach 15 Tagen beinahe $\frac{1}{25}$ des Gesamtstickstoffs. Hausmann¹⁾ fand, dass bei Spaltung des Caseins mit siedender concentrirter Salzsäure 13,37 % des Gesamtstickstoffs in Form von Ammoniak erhalten werden. Es ist möglich, dass in einem bestimmten Moment des Verdauungsprocesses die Bildung von Amidstickstoff aufhört, wie ich es bei dem Serumalbumin beobachten konnte; doch habe ich einschlägige Versuche nicht angestellt.

IV. Versuche mit krystallisirtem Eialbumin und mit Serumglobulin.

Weiter habe ich noch zwei Versuchsreihen zur Ermittlung des zeitlichen Auftretens und Verschwindens der Verdauungsprodukte des krystallisirten Eialbumins und des Serumglobulins durchgeführt. Die Resultate beider Versuchsreihen sind in den Tabellen XIII und XIV wiedergegeben.

¹⁾ W. Hausmann, l. c., S. 105.

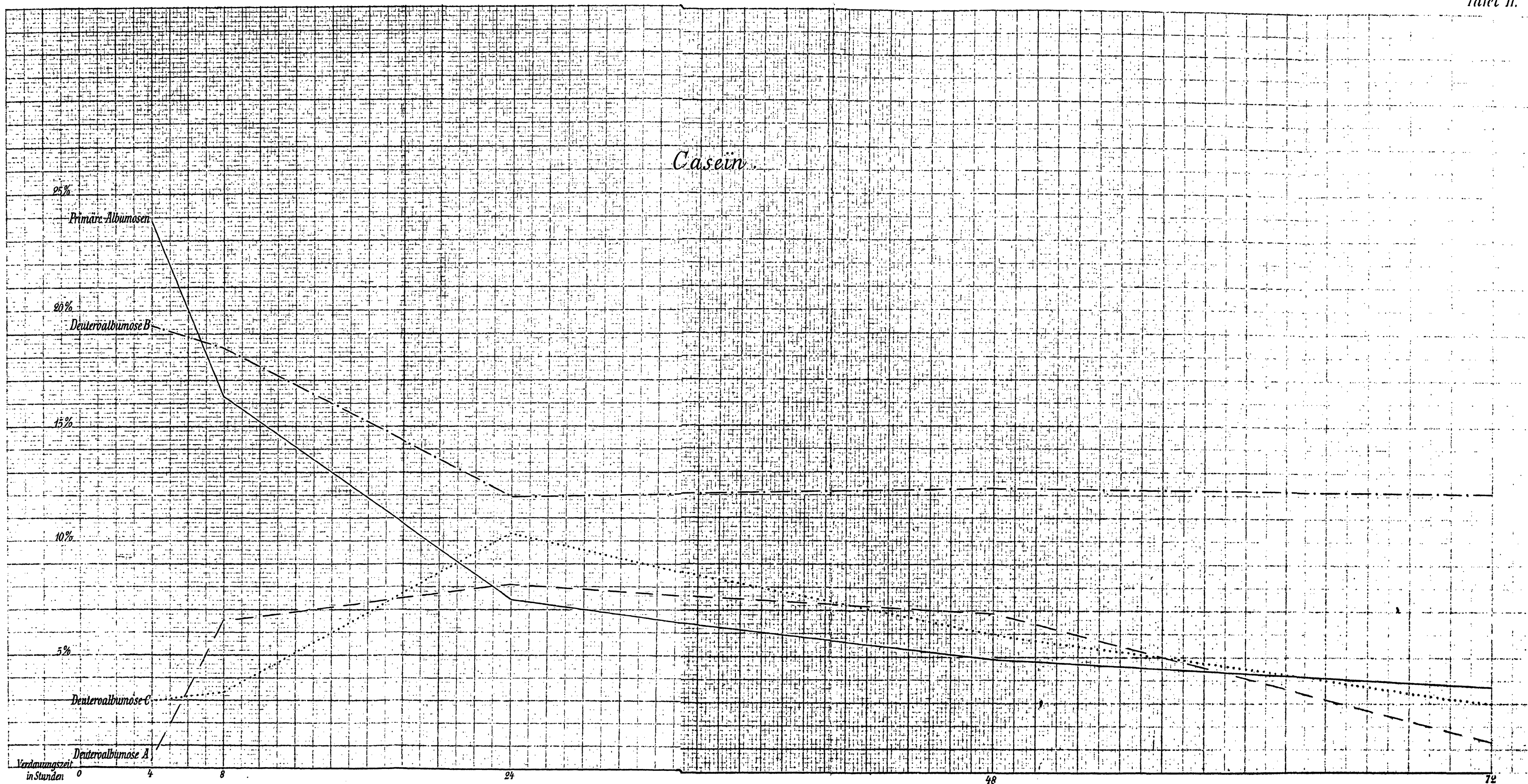
a) Krystallisirtes Eieralbumin.

Tabelle XIII.

Verdauungszeit	Neutralisationspräcipitat (Acidalbumin)	«Primäre» Albumosen	Deuteroalbumose A	Deuteroalbumose B	Deuteroalbumose C	Peptone
$\frac{1}{2}$ Stunde	Negativ	Spuren	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ
1 »	Positiv	Positiv	Spuren	Positiv (I. Max.)	Spuren	»
$1\frac{1}{2}$ »	»	»	»	» } im Ab-	»	»
2 Stunden	»	»	Positiv	» } nehmen	Positiv	Spuren
4 »	» (Max.)	»	»	» } im Zu-	»	Positiv
8 »	Negativ	» (Max.)	» (Max.)	» } nehmen	»	»
1 Tag	»	»	»	» } nehmen	»	»
2 Tage	»	»	»	»	» (I. Max.)	»
3 »	»	»	»	» (II. Max.)	»	»
4 »	»	»	»	»	»	»
5 »	»	»	Spuren	»	»	»
6 »	»	Spuren	»	»	»	»
7 »	»	»	Negativ	»	»	»
8 »	»	Negativ	»	»	»	»
9 »	»	»	»	»	»	»
10 »	»	»	»	Spuren	Spuren	»
11 »	»	»	»	»	»	»
12 »	»	»	»	»	»	»
13 »	»	»	»	»	»	»
14 »	»	»	»	»	»	»
15 »	»	»	»	»	»	»

Es wurden etwa 2 g des Eiweisskörpers auf 100 ccm. Verdauungsflüssigkeit genommen. Die Lösung des coagulirten Präparats war erst nach 6 Stunden vollendet.

Nach einer halben Stunde Verdauungszeit erhielt ich als Verdauungsprodukte nur Spuren von «primären» Albumosen, weder Acidalbumin noch Deuteroalbumosen oder Peptone. Nach einer Stunde erschienen die verschiedenen Deuteroalbumosen und das Acidalbumin, letzteres sowie die «primären» Albumosen und besonders die Deuteroalbumose B in schon nennenswerther Menge, A und C hingegen nur spurenweise; Peptone fehlten ganz. Wie Tabelle XIII zeigt, erreicht das Acidalbumin sein Maximum nach 4stündiger Verdauung; nach



8 Stunden ist es vollständig verschwunden. Das Maximum der «primären» Albumosen ist nach 8 Stunden erreicht; nach 6 Tagen finden sich nur noch Spuren, und am 8. Tag der Verdauung sind auch diese verschwunden. Die Deuteroalbumose A tritt in ansehnlicher Menge erst nach 2 Stunden auf; ihr Maximum fällt mit jenem der «primären» Albumosen zusammen; nach fünf Tagen sind nur noch Spuren vorhanden, welche vor Ablauf des siebenten Tages auch noch verschwinden. Die Deuteroalbumose B erreicht ihr Maximum sogleich bei ihrem Auftreten nach einstündiger Verdauungszeit. Nach einer bis zur zweiten Stunde anhaltenden Abnahme beobachtet man von neuem eine allmähliche Vermehrung, welche am dritten Tag zu einem zweiten Maximum führt, das höher ist als das erste, hierauf folgt ein zuerst schnelles, später unmerkliches Abnehmen. Vom 10. Tag an bleibt die Menge unverändert; 15 Tage nach Beginn des Versuches sind immer noch Spuren nachzuweisen. Die Deuteroalbumose C erscheint in nennenswerther Menge erst nach der zweiten Stunde; das Maximum ist nach 2 Tagen erreicht, dann folgt eine Verminderung, nach welcher vom 10. Tag ab nur Spuren zurückbleiben. Die erste Andeutung von Peptonen findet sich nach 2stündiger Verdauung; nach 4 Stunden treten sie in nennenswerther Menge auf und sind noch am 15. Tage des Versuches vorhanden. .

Die Deuteroalbumose B zeigt, wie beim Serumalbumin, zwei Maxima. Die Verwandtschaft zwischen Eieralbumin und Serumalbumin ist ferner dadurch gekennzeichnet, dass auch hier die Deuteroalbumose A zuerst verschwindet, sodann die «primären» Albumosen. Als Endprodukte der Verdauung gibt das krystallisierte Eieralbumin gleich dem krystallisierten Serumalbumin Peptone und Spuren von C, aber beim Eieralbumin bleibt auch eine gewisse Menge der Deuteroalbumose B zurück und zwar mehr als von C.

Die Thatsache, dass vor dem Auftreten des Acidalbumins schon Spuren von «primären» Albumosen unter den Verdauungsprodukten nachzuweisen sind, widerspricht besonders schlagend der verbreiteten Annahme, nach welcher die «primären» Albumosen vom Acidalbumin abstammen sollen. Im-

merhin soll nicht ausser Betracht gelassen werden, dass die zum Nachweis des Acidalbumins herangezogene Methode (die Neutralisation) bei sehr kleinen Mengen etwas weniger verlässlich ist als das Aussalzen der Albumosen mit Zinksulfat, und es kann daher nicht völlig ausgeschlossen werden, dass Spuren von Acidalbumin schon nach der ersten halben Stunde auftreten. Wie dem auch sein mag, sicher ist das bei Casein und krystallisiertem Serumalbumin schon beobachtete gleichzeitige Vorhandensein von Albumosen und Acidalbumin im Beginn des Verdauungsprocesses auch bei dem krystallisierten Eialbumin gegeben, während bei allen hier in Frage stehenden Substanzen die Peptone erst später auftreten.

b) Serumglobulin.

Tabelle XIV.

Verdauungszeit	Neutralisationspräcipitat (Acidalbumin)	«Primäre» Albumosen	Deuteroalbumose A	Deuteroalbumose B	Deuteroalbumose C	Peptone
$\frac{1}{2}$ Stunde	positiv	positiv	Spuren positiv	Spuren positiv	Spuren positiv	negativ
1 »	»	»	»	»	»	Spuren positiv
1 $\frac{1}{2}$ Stunden	»	»	»	»	»	»
2 »	»	» (Max.)	»	»	»	»
4 »	» (Max.)	»	» (Max.)	»	»	»
8 »	negativ	»	»	» (Max.)	»	»
1 Tag	»	»	»	»	»	»
2 Tage	»	»	Spuren negativ	»	» (Max.)	»
3 »	»	Spuren negativ	»	»	»	»
4 »	»	»	»	»	»	»
5 »	»	»	»	Spuren negativ	»	»
6 »	»	»	»	»	»	»
7 »	»	»	»	»	»	»
8 »	»	»	»	»	»	»
9 »	»	»	»	»	Spuren	»
10 »	»	»	»	»	»	»
11 »	»	»	»	»	»	»
12 »	»	»	»	»	»	»

Die Menge des Globulins auf 100 ccm. Verdauungslösung betrug etwa 2 g. Während beim krystallisierten Eialbumin

die Auflösung noch langsamer verläuft als beim Casein, löst sich das Serumglobulin fast ebenso schnell (fast nach 2 Stunden in obiger Versuchsreihe) wie das krystallisirte Serumalbumin. Schon nach einer halben Stunde findet man Acidalbumin, «primäre» Albumosen, sowie Spuren der Deuteroalbumosen A, B und C. Die Peptone erscheinen, wie bei dem Serumalbumin, schon nach einer Stunde, in nennenswerther Menge nach 1½ Stunden, und sie finden sich auch noch am 12. Tage der Verdauung. Das Acidalbumin erreicht sein Maximum nach 4stündiger Verdauung, verschwindet vollständig nach 8 Stunden. Die verschiedenen Deuteroalbumosen treten in beträchtlicher Menge nach 1stündiger Verdauung auf. Das Maximum erreichen die «primären» Albumosen nach 2, die Deuteroalbumose A nach 4 Stunden; die Deuteroalbumose B, welche wie beim Casein ein einziges Maximum hat, erreicht dasselbe nach 8 Stunden. Bei Deuteroalbumose C ist die grösste Menge nach 2 Tagen zu beobachten; vom 9. Tag ab bis zum Ende des Versuches ist sie nur in Spuren nachweisbar. Das Serumglobulin liefert die gleichen Endprodukte wie das Serumalbumin, nämlich Peptone und Spuren von C. Auch verschwinden die anderen Verdauungsprodukte dieser beiden Körper in derselben Reihenfolge, und zwar zunächst schon vor Ablauf des ersten Tages das Acidalbumin, dann nacheinander die Deuteroalbumose A, die «primären» Albumosen, die Deuteroalbumose B.

Erwähnen möchte ich noch, dass in beiden Versuchsreihen (Tab. XIII und XIV) nach vollständiger Fällung der Albumosen und Abscheiden des Zinks die Flüssigkeiten, u. s. w. bei dem Eieralbumin nach 1stündiger, beim Serumglobulin nach ½stündiger Verdauung mit Gerbsäure Niederschläge gaben, welche sich in einem Ueberschuss des Reagens wieder auflösten.

V. Schlussbemerkungen.

Auf Grund der Beobachtungen Kühne's¹⁾ und seiner Schüler, namentlich Neumeister's, nimmt man an, dass

¹⁾ W. Kühne und R. H. Chittenden, Zeitschr. f. Biologie. N. F., Bd. I, 1883, S. 159; Bd. II, 1884, S. 11; Bd. IV, 1886, S. 409 u. 423;

das Eiweissmolekül durch Pepsinverdauung zunächst in Acidalbumin, dann in «primäre» Albumosen, dann in Deuteroalbumosen, am Schluss in echte Peptone übergeführt wird. Peptone sollen überhaupt das niedrigste Produkt der durch Pepsinsalzsäure erreichbaren Eiweisssspaltung darstellen. Durch den von E. P. Pick¹⁾ geführten Nachweis, dass bei Pepsinverdauung nicht weniger als drei Deuteroalbumosen und zwei verschiedene Peptone entstehen, erfuhr das Schema der Kühne'schen Schule eine Complication, und da Pick's an Witte-Pepton gemachte Beobachtungen durch Umber²⁾ und Alexander³⁾ an reinen Eiweisskörpern in allen wesentlichen Punkten bestätigt wurden, ist es dringend geboten, zu untersuchen, inwieweit das angeführte Schema den neuen Thatsachen gegenüber ausreicht.

Obgleich meine Untersuchungen nicht direkt darauf gerichtet waren die genetischen Beziehungen der peptischen Spaltungsprodukte klar zu legen, so haben sie doch einiges Material zur Lösung dieser wichtigen Frage beigebracht. Ich kann daher bei Zusammenfassung meiner Ergebnisse dieses Moment nicht ausser Acht lassen. Ich kann mich dabei in erster Reihe auf die quantitativen Versuche mit krystallisiertem Serumalbumin und gereinigtem Casein stützen, in denen die analytischen Zahlen eine besonders überzeugende Sprache führen (ich verweise in dieser Beziehung auf die graphischen Darstellungen in Tafel I und II), sodann in zweiter Linie auf die Versuchsreihen betreffend den zeitlichen Verlauf der Eiweisssspaltung, bei denen nicht bloss die angeführten Eiweissstoffe, sondern auch krystallisiertes Eialbumin und gereinigtes Serumglobulin zur Verwendung kamen. Um einen Ueberblick dieser Versuchsreihen zu ermöglichen, habe ich ihre Ergebnisse in umstehender Uebersichtstabelle zusammengestellt.

Bd. VII, 1888, S. 358. — W. Kühne, Zeitschr. f. Biologie, N. F., Bd. XI, 1892, S. 1 und 308.

1) E. P. Pick, l. c.

2) F. Umber, Die Spaltung des krystallinischen Eier- und Serumalbumins, sowie des Serumglobulins durch Pepsinverdauung. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXV, 1898. S. 258.

3) F. Alexander, l. c.

Von den Ergebnissen dieser Versuche sei zunächst hervorgehoben, dass sich die durch Salzfällung unterscheidbaren Produkte der Pepsinverdauung auch in Betreff ihres Auftretens und weiteren Schicksals ungleich verhalten. Würde es sich bei der fractionirten Abscheidung der Deuteroalbumosen um eine künstliche, durch unwesentliche, zufällige Momente bedingte Trennung handeln, so könnte Auftreten und Verschwinden derselben unmöglich einen regelmässigen Verlauf erkennen lassen. Nun ist aber für jede Fraction der Zeitpunkt ihres Entstehens und Verschwindens sowie des Maximums ein anderer, wobei sich wieder für die verschiedenen Eiweissstoffe merkbare, möglicherweise charakteristische Verschiedenheiten ergeben. Bei den einzelnen Deuteroalbumosen handelt es sich sonach um Complexe, die nicht bloss von der Proto- und Heteroalbumose und von einander chemisch verschieden, sondern auch durch ihr quantitatives und zeitliches Auftreten in den einzelnen Phasen der Verdauung individuell charakterisirt sind. Was hier noch etwa fraglich bleibt, ist die Zahl dieser Deuteroalbumosen, und zwar nicht in der Richtung, dass man sie etwa zu hoch, sondern im Gegentheil, dass man sie noch zu niedrig veranschlagt.

Wie ich vor Kurzem ausgeführt habe,¹⁾ hat man Grund, im Witte-Pepton die Anwesenheit von zwei Deuteroalbumosen A anzunehmen, wovon die erste (A_{α}) allerdings nur in verschwindender Menge vorhanden sein kann. Das Verhalten der Deuteroalbumose A in meinem Zeitversuch (Tabelle VII), wonach sie zunächst nach halbstündiger Verdauung deutlich nachweisbar ist, dann bis auf Spuren verschwindet, dann aber zu einem in der zweiten Stunde erreichten Maximum ansteigt, lässt die Deutung zu, dass es sich auch in diesem Fall um zwei verschiedene A-Albumosen gehandelt hat.

Viel deutlicher als hier ist das Auftreten zweier Maxima bei der Deuteroalbumose B des Serumalbumins und des Eieralbumins (nicht des Caseins und des Serumglobulins) ausgesprochen.

¹⁾ E. Zunz, l. c., S. 239.

Tabelle XV.

Untersucher Eiweisskörper	Versuchs- tabellen	Voll- ständig in Lösung ge- gangen nach Stunden	Acidalbumin			Proto- und Hetero- albumose		
			Auf- treten	Maxi- mum	Ver- schwin- den	Auf- treten	Maxi- mum	Ver- schwin- den
			in Stunden			in Stunden		
Krystallisirtes Serumalbumin	III und V	1 1/2	—	—	vor 2	vor 2	2	noch nach 3×24 vor- handen
	VII	2	vor 1/2	1	2	1/2	2	vor 4×24
Serumglobulin	XIV	2	vor 1/2	4	vor 8	vor 1/2	2	vor 4×24
Krystallisirtes Eieralbumin	XIII	6	vor 1	4	vor 8	1/2	8	vor 8×24
Casein	X	3	—	—	vor 4	vor 4	4	noch nach 3×24 vor- handen
	XI	2 1/2	vor 1/2	1 1/2	3 1/2	vor 1/2	1 1/2	noch nach 28×24 Spuren

Tabelle XV.

Deuteroalbumose A			Deuteroalbumose B			Deuteroalbumose C			Peptone
Auf- treten	Maxi- mum	Ver- schwin- den	Auf- treten	Maxi- mum	Ver- schwin- den	Auf- treten	Maxi- mum	Ver- schwin- den	Auftreten in Stunden
in Stunden			in Stunden			in Stunden			
vor 2	4	vor 2×24	vor 2	2 und 8	noch nach 3×24 vor- handen	vor 2	2×24	noch nach 3×24 deutlich vor- handen	vor 2
vor 1/2	(1/2) und 2	vor 3×24	vor 1/2	2	vor 5×24	1	3×24	noch nach 16×24 Spuren	1
1/2	4	vor 3×24	1/2	8	vor 6×24	1/2	2×24	noch nach 12×24 Spuren	1
1	8	vor 7×24	vor 1	1 und 3×24	noch nach 15×24 Spuren	1	2×24	noch nach 15×24 Spuren	2
vor 4	24	noch nach 3×24 vor- handen	vor 4	4	noch nach 3×24 deutlich vor- handen	vor 4	24	noch nach 6×24 vor- handen	vor 4
vor 1/2	6	vor 12×24	vor 1	3 1/2	vor 8×24	1/2	6	noch nach 28×24 deutlich vor- handen	1 1/2

Diese Erscheinung zeigt, dass die Bildung der B-Albumose zu zwei verschiedenen Zeitpunkten der Verdauung besonders reichlich erfolgt, sie sagt aber nichts darüber aus, ob es sich um eine und dieselbe Substanz handelt. Da das erste Maximum auf einen Zeitpunkt fällt, wo das ursprüngliche Eiweiss und das daraus hervorgegangene Acidalbumin eben verschwunden sind, so kann man die hier vorhandene B-Albumose als ein direkt aus ihnen hervorgegangenes Produkt ansehen; die B-Albumose, welche das viel später auftretende zweite Maximum bildet, kann aber nicht aus gleicher Quelle stammen; sie muss aus anderen Zwischenprodukten — wie der Verlauf der Curve zeigt, aus den «primären» Albumosen — hervorgegangen sein. Diesem verschiedenen Ursprung kann aber auch eine verschiedene chemische Beschaffenheit entsprechen. Wenngleich meine Versuche eine Entscheidung dieser Frage nicht ermöglichen, so bin ich doch durch gütige Mittheilung des Herrn Dr. E. P. Pick in die Lage gesetzt, die letztere Alternative als die bei weitem wahrscheinlichere zu bezeichnen, da es ihm gelang, tiefgreifende Unterschiede zwischen der direkt aus Witte-Pepton erhältlichen und den durch Verdauung von «primären» Albumosen entstehenden B-Albumosen nachzuweisen.

In Betreff der genetischen Beziehungen, in welchen die erhaltenen Produkte zu einander stehen, ist zunächst hervorzuheben, dass das Auftreten von Acidalbumin stets von der Bildung von Albumosen begleitet war. In einem Fall (krystallisiertes Eieralbumin) fanden sich sogar Spuren von «primären» Albumosen schon nach einer halben Stunde Verdauungszeit, während die übrigen Fractionen, das Acidalbumin inbegriffen, erst nach einstündiger Verdauungszeit nachgewiesen wurden. Es bestätigt dies eine Angabe Klug's,¹⁾ wonach Syntonin und Albumosen sich schon 5 Minuten nach Beginn der Pepsinwirkung nebeneinander nachweisen lassen. Diese Bildung von Albumosen neben Acidalbumin ist aber gewiss nicht eine der Pepsinwirkung allein zukommende Erscheinung. F. Gold-

1) Ferd. Klug, Untersuchungen über Pepsinverdauung. Pflüger's Archiv f. d. gesammte Physiolog., Bd. 60, 1895, S. 43.

schmidt¹⁾ beobachtete in seinen Versuchen über die Einwirkung von Säuren auf krystallisirtes Serumalbumin, dass Albumosen zugleich mit dem Acidalbumin entstanden, öfter sogar schon zu einer Zeit, wo noch jede Spur von Acidalbumin vermisst wurde. Selbstverständlich darf man dabei nicht die etwas geringere Empfindlichkeit des zur Entdeckung des Acidalbumins gebrauchten Verfahrens ausser Acht lassen. Auch wenn man diesem von Goldschmidt selbst hervorgehobenen Umstand Rechnung trägt, wird man seine Annahme berechtigt finden, dass die Bildung von Acidalbumin durch Abspaltung von Albumosen-complexen erfolgt und ihr auch für die Pepsinverdauung Gültigkeit zusprechen.

Durch diesen Befund wird der Bezeichnung späterer Spaltungsprodukte als «primär» vorgegriffen. Strenggenommen sind ja nur das Acidalbumin und die daneben entstehenden Substanzen primäre Spaltungsprodukte, die später aus Acidalbumin entstehenden aber nicht mehr. Zur Zeit lässt sich jedoch diese Scheidung nicht durchführen, da über den Vorgang der Acidalbuminbildung nicht ausreichende Untersuchungen vorliegen, da es überdies den Eindruck macht, als ob die neben Acidalbumin auftretenden Produkte — die Albumosen — nicht von den bei weiterer Verdauung aus Acidalbumin entstehenden verschieden wären. Goldschmidt fand, dass bei Säureeinwirkung auf Serum- und Eieralbumin sofort neben Acidalbumin «primäre» Albumosen (im Sinne der Schule Kühne's, vermuthlich Proto- und Heteroalbumose) auftreten, dass daneben beim Eieralbumin auch noch Deuteroalbumosen (A und B) erhalten werden.

Der Einfachheit wegen will ich von der Rolle, welche das Acidalbumin bei der Bildung der Albumosen spielt, absehen, und wie die bisherigen Untersucher alle jene Produkte als «primär» bezeichnen, welche direkt aus dem unveränderten Eiweiss oder aus dem Acidalbumin hervorgehen. Meine Erfahrungen machen nun die schon durch Goldschmidt's Be-

¹⁾ Franz Goldschmidt, Ueber die Einwirkung von Säuren auf Eiweissstoffe. Inaugural-Dissertation, Strassburg 1898.

obachtung nahegelegte Vorstellung zur Gewissheit, dass auch ein Theil der Deuteroalbumosen zu den primären Produkten gehört. Ein Blick auf Tafel I lehrt, dass beim Serumalbumin die Deuteroalbumose B, sobald das Acidalbumin verschwindet, in einer Menge vorhanden ist, welche nicht weit hinter jener der «primären» Albumosen, das heisst der Summe der Proto- und Heteroalbumose, zurückbleibt, während die Deuteroalbumosen A und C an Menge weit zurückstehen. Ebenso zeigt die Deuteroalbumose B des Eieralbumins (vergl. Tabelle XIII) nach einer Stunde ein Maximum, zu einer Zeit, wo die Deuteroalbumosen A und C erst spärlich vorhanden sind. Während betreff der Deuteroalbumose B des Serumalbumins und Eieralbumins kein Zweifel an der primären Natur derselben bestehen kann, ist die Sachlage für die gleiche Albumose des Caseins und des Serumglobulins minder klar. Doch spricht das frühzeitige Auftreten von Deuteroalbumose A beim Casein, ferner der Umstand, dass sie ihr Maximum fast in allen Fällen in den ersten Stunden der Pepsineinwirkung erreicht, dafür, dass wir es auch in diesem Fall möglicherweise mit einem primären Produkt zu thun haben. Eine Entscheidung wird sich hier erst treffen lassen, wenn man die Frage nach der einheitlichen Natur dieser Albumosen endgültig beantwortet hat.

Hingegen kann über die secundäre Natur der Deuteroalbumose C und der «Peptone», das heisst in meinem Fall der nicht durch Zinksulfat, wohl aber durch Phosphorwolframsäure ausfällbaren, die Biuretreaction darbietenden Substanzen, kein Zweifel obwalten. F. Goldschmidt, welcher mit Eier- und Serumalbumin arbeitete, konnte erst nach längerer Einwirkung bei einer Temperatur von 95° C. die Bildung von Deuteroalbumose C und von Peptonen nachweisen, während die «primären» Albumosen und die Deuteroalbumosen A und B leicht bei 40° und sogar schon bei Zimmertemperatur erhalten wurden. Auch in meinen Versuchen traten Deuteroalbumose C und «Peptone» erst nach Bildung der anderen Albumosen auf; das Maximum von Deuteroalbumose C fiel sehr spät, frühestens nach 24 Stunden, und auch die Peptone, deren Maximum nicht

genau zu ermitteln war, liessen eine Zunahme in den vorgeschrittenen Stadien der Verdauung erkennen. Wenn Schrötter¹⁾ die Meinung ausspricht, dass bei der Einwirkung von Säuren das Eiweiss nicht erst in Albumosen und dann in Peptone zerfiele, sondern gleichzeitig in Albumosen und Peptone, dass also die Albumosen keine Zwischenstufe darstellten, so kann ich ihm nicht beistimmen.

Sehr überraschend ist der aus meinen Versuchen hervorgehende Befund, dass sehr bald nach Beginn der Verdauung ein erheblicher Theil des Eiweissstickstoffs in Form von die Biuretreaction nicht mehr gebenden Körpern abgespalten wird. Dieses frühzeitige reichliche Auftreten, noch vor Bildung der Deuteroalbumose C und der Peptone, legt die Vermuthung nahe, dass es sich hier möglicherweise um eine primäre Abspaltung der betreffenden stickstoffhaltigen Substanzen aus dem intacten Eiweiss oder aus Acidalbumin handelt. Die grosse Menge dieser noch unbekannten Spaltungsprodukte macht ihre nähere Untersuchung äusserst wünschenswerth. Ich habe mich dieser Aufgabe nicht mehr widmen können, und bemerke nur, dass sie, zum Theil wenigstens, durch Tannin fällbar waren und bei längerer Dauer des Verdauungsversuches, wie aus Tabelle V hervorgeht, zum Theil in durch Phosphorwolframsäure fällbare Substanzen übergingen. Allem Anschein nach stellen diese die Biuretreaction nicht mehr gebenden Stoffe auch die Hauptmasse der bei intensiver Pepsinverdauung gebildeten Endprodukte dar. Inwieweit dieser Befund die angefochtenen Angaben von Hoppe-Seyler²⁾ und seinen Schülern über das Auftreten von Aminosäuren bei Pepsinverdauung sowie auch die ähnlichen gelegentlichen Beobachtungen von Lawrow³⁾ aus jüngster Zeit bestätigt, bleibt dahingestellt.

Als Endprodukte der Pepsinverdauung hat man lange Jahre

1) H. Schrötter, Beiträge zur Kenntniss der Albumosen. Monatsh. f. Chemie, Bd. XVI, 1895, S. 609.

2) F. Hoppe-Seyler, Physiol. Chemie, Bd. II, S. 228. 1878.

3) D. Lawrow, Zur Kenntniss des Chemismus der peptischen und tryptischen Verdauung der Eiweissstoffe. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXVI, S. 513. 1899.

hindurch allgemein die Peptone (ursprünglich im weiteren Sinn mit Einschluss der Albumosen) angesehen. Nach Chittenden und Hartwell¹⁾ tritt bei der künstlichen peptischen Verdauung irgend eines Eiweissstoffes eine vollständige Umwandlung in Peptone im Sinne Kühne's, wenn überhaupt, doch sehr selten ein. In ihren mit gewöhnlichem geronnenem Eieralbumin und mit Fibrin vorgenommenen Versuchen erhielten sie freilich etwas mehr als 50% Peptone. Die angewandte Methode (Fällung des Acidalbumins durch Neutralisation, Fällung der Albumosen mit Ammonsulfat, Abwägen beider Fractionen und quantitative Bestimmung der Peptone durch Subtraction vom Gesamtgewicht) muss jedoch viel zu hohe Zahlen für Pepton geben, da bei ihr die Gesamtmenge der die Biuretreaction nicht mehr gebenden Verdauungsprodukte als Pepton in Rechnung kommt. Nach meinen Erfahrungen steht die Menge der gebildeten Peptone jederzeit der Menge der unbekannten, nicht mehr die Biuretreaction darbietenden Produkte nach.

Neben Peptonen, Albumose C, und den die Biuretreaction nicht mehr gebenden Körpern, blieb beim Casein noch eine allerdings sehr geringe Menge einer Substanz vom Verhalten der Proto- oder Heteroalbumose, beim Eieralbumin eine gewisse Menge von Deuteroalbumose B (sogar mehr als von C) in der Verdauungslösung zurück. Ob man es hier mit Endprodukten der Verdauung zu thun hat, muss anderweitig entschieden werden.

Im Verlaufe des Verdauungsprocesses wird eine gewisse Menge Stickstoff vom Eiweissmolekül als Ammoniak oder in Form einer Verbindung abgespalten, die bei Destillation mit Magnesia Ammoniak abgibt. Beim Serumalbumin steigt sie allmählich zu einem Maximum an und bleibt dann unverändert. Das Maximum entspricht ungefähr einem Drittel des im Serumalbumin nach Hausmann enthaltenen Amidstickstoffes. Bei

¹⁾ R. H. Chittenden and J. A. Hartwell, The relative formation of proteoses and peptones in gastric digestion. Journal of Physiology, Bd. XII, 1891, S. 12.

der Verdauung des Caseins ist die absolute Menge des in gleicher Weise abspaltbaren Stickstoffs noch grösser.

Aus dem Angeführten erhellt zur Genüge, dass die Vorstellung, die man sich bisher von der peptischen Eiweiss-spaltung gebildet hatte, eine viel zu einfache war. Die Zahl der direct aus Eiweiss (und Acidalbumin) hervorgehenden primären Produkte ist grösser als man früher anzunehmen geneigt war. Soviel sich zur Zeit übersehen lässt, entstehen mindestens drei, wahrscheinlich aber noch mehr primäre Spaltungsprodukte (sicher Proto- und Heteroalbumose, ein Theil der Deuteroalbumose B, möglicherweise Deuteroalbumose A und auch ein Theil der unbekannten, die Biuretreaction nicht mehr gebenden Substanzen). Es ist zu erwarten, dass auch die Zahl der secundären Produkte sich entsprechend erhöhen wird. Das systematische Studium dieser Abbauprodukte nach der chemischen und physiologischen Seite wird einerseits neue Anhaltspunkte zur Beantwortung der wichtigen Frage nach dem Aufbau der Eiweisskörper ergeben, andererseits neues Material zur Deutung ihrer massgebenden Aufgabe im Stoffwechsel der Zelle beschaffen.
