

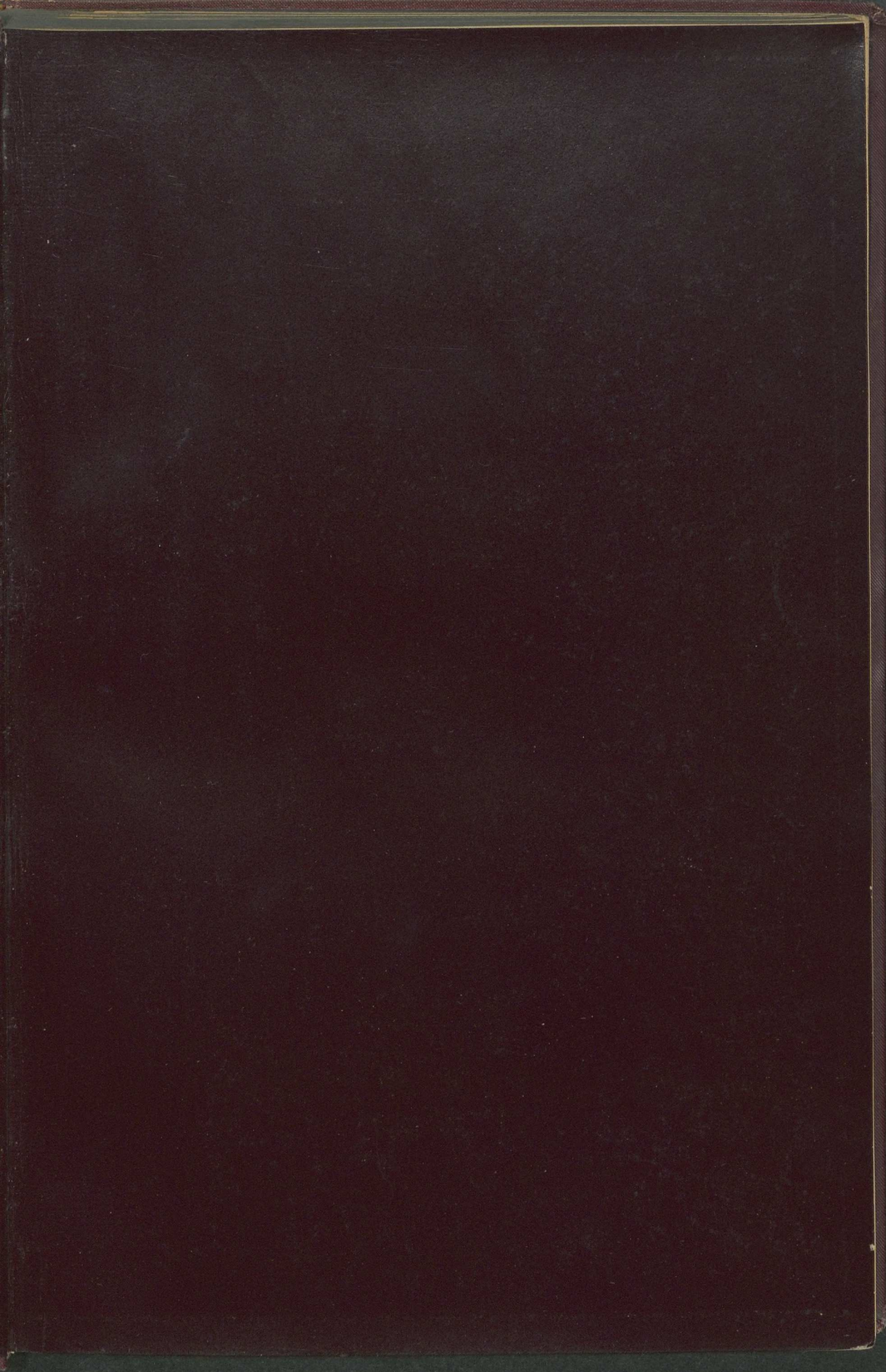
Denne fil er downloadet fra
Danmarks Tekniske Kulturarv
www.tekniskkulturarv.dk

Danmarks Tekniske Kulturarv drives af DTU Bibliotek og indeholder scannede bøger og fotografier fra bibliotekets historiske samling.

Rettigheder

Du kan læse mere om, hvordan du må bruge filen, på
www.tekniskkulturarv.dk/about

Er du i tvivl om brug af værker, bøger, fotografier og tekster fra siden, er du velkommen til at sende en mail til *tekniskkulturarv@dtu.dk*



663.1

T. B. gl

Hr. Prof. Dr. phil. J. M. Jørgensen:



Obtjagt

H. Weid.

JOSEF ENZYMER

STUDIER
OVER
PROTEOLYTISKE ENZYMER
I SPIRENDE BYG (MALT).

AFHANDLING FOR DEN FILOSOFISKE DOKTORGRAD

AF

FR. WEIS,

MAG. SC. ASSISTENT VED CARLSBERG LABORATORIUM.

MED 17 KURVE-TAVLER.



KJØBENHAVN.
H. HAGERUPS BOGHANDEL.

H. H. THIELES BOGTRYKKERI.

1902.

Denne Afhandling er af det mathematisk-naturvidenskabelige Fakultet
antagen til offentlig at forsvares for den filosofiske Doktorgrad.

Kjøbenhavn d. 21 Oktober 1902.

E. LÖFFLER,
f. T. Decanus.

MINDET

OM

DEN BANEKRYDDE ENZYMFORSKER,

PROF. DR. PHIL.

JOHAN KJELDAHL,

TILGNET.

MINNET

THE UNIVERSITY OF CHICAGO

THE UNIVERSITY OF CHICAGO

THE UNIVERSITY OF CHICAGO

JOHN R. KELLY

Ved Afslutningen af dette Arbejde maa jeg først i dybeste Taknemlighed mindes min afdøde Chef og Lærer, Professor *Johan Kjeldahl*, der gav mig Ideen til det, og som ved sine egne klassiske Arbejder over Enzymer har haft større Betydning for mig end nogen anden Forsker paa dette Omraade.

Af andre litterære Arbejder har jeg særlig draget Nytte af Hr. Laboratorieforstander (Ny Carlsberg) *H. Schjernings* omhyggelige og indgaaende Undersøgelser over Fædningsmidler for Proteinstoffer, gennem hvilke jeg førtes ind paa en Side af mit Æmne, der ellers let vilde kunne have undgaaet min Opmærksomhed. Hr. *Schjerning* skylder jeg desuden Tak for flere værdifulde, mundtlige Meddelelser og for elskværdig Bistand med Korrektoren.

I størst personlig Taknemlighedsgjæld staar jeg dog til min nuværende Chef, Hr. Dr. phil. *S. P. L. Sørensen*, der lige fra sin Ansættelse som Forstander for Carlsberg Laboratoriets kemiske Afdeling har fulgt mit Arbejde med den Interesse, der altid virker opmuntrende og stimulerende. Med aldrig svigtende Velvilje har han staaet mig bi med Raad og Hjælp, hver Gang jeg paakaldte disse, og gennem talrige Samtaler under Bearbejdelsen af mit Forsøgsmateriale har jeg ofte draget uvurderlig Nytte af hans Kritik og uddybet eller ændret mit Syn paa enkelte Dele af mit Arbejde. For den Tid og store personlige Elskværdighed, Doktoren saaledes har ofret mig, beder jeg ham modtage min hjærteligste Tak.

Endelig bringer jeg *Bestyrelsen for Carlsberg Laboratoriet* min Tak, først fordi den ved min Ansættelse som Assistent ved

Laboratoriet gav mig Lejlighed til at udføre et Arbejde, der paa Grund af den lange Tid og de store Omkostninger, det har krævet, vanskeligere kunde udføres paa andre Laboratorier, og dernæst for den velvillige Redebonhed, hvormed den imødekom mit Ønske om at benytte dette Arbejde som Afhandling for den filosofiske Doktorgrad.

Carlsberg Laboratorium, i April 1902.

FR. WEIS.

INDHOLD.

	Side
I. Indledning.....	1
Spørgsmaalets Historie. Opgaven.....	1
II. De anvendte Forsøgsmetoder.....	17
III. Almindelige Love for Proteolysen.....	33
1. Afhængighed af Temperaturen.....	35
2. — - Fermentmængden.....	48
3. — - Proteinopløsningens Koncentration.....	53
4. — - Tiden.....	55
5. — - Tiden ved forskellige Temperaturer.....	62
6. — - — - Fermentmængder.....	65
7. — - — - Proteinkoncentrationer.....	67
8. — - fremmede Stoffers Nærværelse.....	73
IV. Enzymernes Natur og Virkemaade.....	95
1. Findes der i spirende Byg flere proteolytiske Enzymer, som det er muligt at adskille eller renfremstille?.....	97
2. Kemiske og fysiske Egenskaber.....	104
3. Indvirkning paa forskellige Æggehvide-stoffer. Ligheder med dyrisk Pepsin og Trypsin.....	116
4. De proteolytiske Spaltningsprodukter.....	125
V. Enzymernes første Optræden og Dannelse.....	143
1. Spiringsstadiet.....	143
2. Zymogener.....	148
VI. Oversigt over Hovedresultaterne.....	152

I.

INDLEDNING.

Spørgsmaalets Historie. Opgaven.

Da nærværende Arbejde — efter Opfordring af min afdøde Chef, Professor Johan Kjeldahl — blev paabegyndt (i Novbr. 1898), forelaa der i Litteraturen kun højst usikre eller rent negative Angivelser om Existensen af et proteolytisk Enzym i spirende Byg og Malt. De Forsøg, der havde givet positive Resultater i saa Henseende, vare blevne eftergaaede af andre Forskere, som ikke havde kunnet bekræfte dem.

Men der blev dog jævnlig talt om Enzymet som eksisterende, hvad enten man nu satte mest Tillid til de positive Angivelser herom, eller man pr. analogiam sluttede, at et saadant Enzym maatte findes i spirende Byg. Man havde endog paa Forhaand givet det et Navn, *Peptase*.

Der var nemlig allerede med Sikkerhed paavist en Række proteolytiske Enzymer i forskellige andre Planter, som f. Ex. Papainet i Mælkesaften af *Carica papaya* (Wurtz 1879, Sidney Martin 1883, m. fl.), Bromelinet i Frugten af *Ananassa sativa* (Marcano 1891, Chittenden 1894), forskellige saakaldte Plantetrypsiner, hvortil forøvrigt ogsaa de to nævnte i Følge hele deres Virkemaade maa henregnes, i hvilende og spirende Frø af Vikker (Gorup-Besanez 1874), Lupiner (Gorup-Besanez 1874, Green 1887) og *Ricinus communis* (Green 1890), endvidere i Frugten af *Cucumis utilissimus* (Green 1892) og i forskellige insektædende Planters (*Nepenthes*, *Drosera*, *Dionæa*, *Pinguicula*) Sekreter (Darwin 1872 og 1888, Hooker 1874, Lawson-Tait 1875, Vines 1877 og 1897 m. fl.)¹. — Og da man tillige vidste, at der under Æggehvidestoffernes Omsætning i Planterne

¹ Se herom forøvrigt J. Reynolds Green: The soluble ferments and fermentation. Cambridge 1899, p. 195 f. f., i hvilken der ogsaa findes en udførlig Litteraturoversigt.

sker omfattende og ofte meget vidtgaaende Sønderdelinger til Peptoner og Amider (særlig belyst ved E. Schulzes og hans Elevers Arbejder), svarende til dem, der foregaa i den dyriske Organisme under Mavesaftens og Pankreassekretets Medvirkning, laa det nær at antage, at proteolytiske Enzymer ogsaa vare almindeligt udbredte i Planteriget, samt at der specielt ogsaa fandtes et saadant i spirende Byg og Malt, som var af Betydning for Spiringsprocessen og bl. a. ogsaa bestemmende for Urtens og Øllets Indhold af kvælstofholdige Bestanddele.

Rigtignok kom der i Løbet af Aaret 1899 meget bestemte Benægtelser af et saadant Enzyms Existens (se senere), men disse bidroge maaske dog kun til at skaffe et virkeligt bevisende Forsøgsmateriale frem for de positive Angivelser, saaledes som det til Overmaal skete i Løbet af Aar 1900.

I den lille historiske Oversigt, som jeg her meddeler, før jeg gaar over til mine egne Forsøg, skal jeg saa vidt mulig indskrænke mig til at nævne, hvad der foreligger om proteolytiske Enzymer¹ i det modne og spirende Bygkorn og i Malt, skjønt det kunde være fristende at give en Oversigt over, hvad vi i det hele taget vide om proteolytiske Enzymer i Planteriget. Men da en saadan for nylig er given af Green i hans før nævnte fortræffelige Bog (*«The soluble ferments and fermentation»*), maa dette vel ogsaa anses for at være overflødig.

De første, som nævne Forekomsten af et proteolytisk Enzym i spirende Byg, ere Gorup-Besanez og H. Will i Arbejder fra 1874 og 1875². De undersøgte forskellige Plantefrø, hovedsageligt af Vikker, men ogsaa saavel uspiret som spirende Byg, det sidste baade i Form af lyst Køllemalt og Luftmalt.

De fremstillede heraf Enzympræparater paa følgende Maade. Fint pulveriserede Korn bleve overgydte med Alkohol af 96 % og henstode hermed i 48 Timer. Efter Afhældning af Alkoholen bleve de da tørrede ved svag Varme. Efter Tørringen blev Pulveret godt gennearbejdet med syruptyk Glycerin, der fik Lov at indvirke i 36—48 Timer. Derefter blev Udtrækket koleret, og Resten svagt presset, de deraf vundne Væsker forenede, atter kolerede, og nu draabevis hældte i et højt Cylinderglas med 8 Dele Alkohol og

¹ Ingen af de Forfattere, der have beskæftiget sig hermed, antage dog, at der findes mere end ét proteolytisk Enzym (Peptasen), medens jeg mener at kunne anføre vægtige Grunde for, at der i det mindste findes to saadanne.

² Gorup-Besanez & Will: Ber. d. d. chem. Gesellsch. VII, 1478 (1874) og VIII, 1510 (1875).

1 Del Æter. Det herved dannede Bundfald blev liggende 2—3 Dage under Alkohol, dernæst affiltreret og, for yderligere at blive renset, efter Udvaskning med Alkohol igen behandlet med Glycerin. Den største Del deraf opløste sig i Glycerinet; den uopløste Rest viste alle Reaktioner paa Æggehvdestof. Af Glycerinopløsningen blev Enzymet nu atter fældet med Alkohol-Æter, hvorefter det fremtraadte som et smukt hvidt, kornet Bundfald, der var kvælstof- og svovlholdigt og ved Forbrænding efterlod temmelig megen Aske. Det opløste sig i Glycerin og i Vand.

Nogle Draaber af denne Enzymopløsning bleve satte til godt udvasket Blodfibrin, der i Forvejen var opsvulmet i 0,2 procentholdig Saltsyre og nu befandt sig i en Syreopløsning af samme Koncentration. Strax nogle Minutter efter og allerede ved almindelig Stuetemperatur forsvandt Fibrintraadernes Konturer, og efter 1—2 Timer var Størstedelen opløst. Længere Indvirkning og ligesaa en Stigning af Temperaturen til 35°—39° syntes ikke at fremkalde videre Omdannelser. De filtrerede Opløsninger gave samtlige Reaktionen for Peptoner »i fuldkommen Skarphed«. Men opsvulmet Fibrin, der blev behandlet alene med 0,2 procentholdig Saltsyre, havde efter flere Timers Indvirkning kun forandret sig yderst lidt og ikke mistet sin »flockige«, halvt gjennemsigtige, Beskaffenhed.

I andre Forsøg havde de ogsaa ladet Enzymet, opløst i 0,2 procentholdig Saltsyre, virke paa Tærninger af kogt Hønsæggehvide. Efter 24—48 Timers Indvirkning ved Stuetemperatur »vare Kanterne tydeligt gjennemskinnende og angrebne, medens Væsken gav samtlige Peptonreaktioner«.

Filtraterne fra de forskjellige Forsøg gave undertiden ved Neutralisation et ganske ringe Bundfald, men i de fleste Tilfælde kunde uforandret Æggehvde ikke længere paavises i Opløsningerne; Filtraterne holdt sig derimod i Reglen fuldstændig klare baade ved Kogning og Neutralisation, gave ikke Bundfald hverken med Mineralsyrer, Kaliumferrocyanid eller Cupridsulfat, men derimod en ganske ren Biuretreaktion. En Dannelse af Leucin, Tyrosin og Asparaginsyre kunde ikke paavises selv efter flere Dages Indvirkning af Enzymet i Vikkefrø, der blandt de undersøgte Objekter ellers gav langt de kraftigste Reaktionen.

De her nævnte Resultater naaedes for Byggets Vedkommende kun med lyst Køllemalt, og det peptoniserende Enzym kunde ikke paavises i uspiret Byg eller Luftmalt.

Efter disse Undersøgelser regnede man almindeligt det proteolytiske Enzyms Existens i spirende Frø som sikkert paavist, og i en Afhandling af E. Schulze og Barbieri i »Journal für Land-

wirtschaft 1881« (»Über das Vorkommen von Peptonen in den Pflanzen«) gaa Forff. ud fra den Antagelse, at Forekomsten af de af dem paaviste Peptoner¹ i forskellige Plantedele skyldes Virkningen af et proteolytisk Ferment.

Imidlertid havde C. Krauch i 1879 taget Gorups og Wills Forsøg op i et Arbejde (»Beiträge zur Kenntniss der ungeformten Fermente im Pflanzenreich«)² men havde ikke kunnet paavise noget peptoniserende Ferment i de mange forskellige Plantedele, han havde undersøgt. For Byggets Vedkommende havde han dog kun taget Sigte paa det diastatiske Enzym, men han meddeler et ikke offentliggjort Arbejde af H. Will, ifølge hvilket Eftersøgningen af Peptase i Frø af Pinie, Majs, Bønner og Mandler efter Gorups Metode alle ogsaa havde givet negative Resultater.

I 1882 offentliggjør C. Krauch endnu en Undersøgelse, der særligt angik de peptondannende Enzymer i Planterne (»Über peptonbildende Fermente in den Pflanzen«)³, og hvori han paa-staar, at han har gjort de Gorupske Forsøg nøjagtigt efter saavel med Vikkefrø som med Køllemalt. Hvad Fibrintraadene angaar, har han vel iagttaget en Volumenformindskelse, men ikke nogen Forsvinden; og den første beror efter hans Mening paa en Indskrumpning, der ogsaa kan iagttages, naar opsvulmede Fibrintraade lægges i et Glycerinudtræk af Blade og Knopper (som efter Krauchs Mening ingen peptoniserende Fermentvirkning har); og Biuretreaktionen skyldes heller ikke nogen Omdannelse af Fibrinet, thi bringes samme Mængde Enzym sammen med a) fortyndet Saltsyre alene eller b) Fibrin + Saltsyre, og filtreres der efter kortere eller længere Tids Henstand, saa faar man Filtrater, i hvilke Biuretreaktionen indtræder med samme Styrke og derfor maa antages at hidrøre fra selve Enzympræparatet.

Nu ere de Krauchske Forsøg ikke videre tydeligt beskrevne, og i sin første Afhandling meddeler han, at han ofte med Held (hvad angaar den diastatiske Virkning) har benyttet Metoder, angivne af Erlenmeyer (Udtræk med en mættet Salicylsyreopløsning) og Duquesnel (Opvarming paa Vandbad til 70°) til Fremstilling af sine Enzympræparater, hvorefter han da sikkert ogsaa vil have naaet at destruere de proteolytiske Enzymer, der efter mine Undersøgelser ere meget følsomme over for Salicylsyre ud-over ganske svage Koncentrationer samt ødelægges totalt ved 70°.

¹ Senere er det bleven bestridt, at der virkelig i kendelig Mængde findes ægte Peptoner i Planterne.

² C. Krauch: Landwirtsch. Versuchsst. XXIII 77—104 (1879).

³ C. Krauch: Landwirtsch. Versuchsst. XXVII 383 (1882).

Paa den anden Side maa det indrømmes, at Gorup-Besanez' Forsøg ikke ere særligt overbevisende, da han ved sin Metode til Fremstilling af Peptase sikkert altid har svækket dette Enzym meget og ofte totalt destrueret det, hvilket hans negative Forsøg med Luftmalt i høj Grad tyder paa.

Samme Aar som Krauch meddelte sine sidste — negative — Resultater (1882), havde J. Kjeldahl taget Spørgsmaalet op som et Led i den store Undersøgelsesrække over de kvælstofholdige Stoffer i Øl og Urt, han havde planlagt. Andre Arbejder, navnlig hans Kvælstofbestemmelsesmetode (1883), der fremgik som et betydningsfuldt Forarbejde til disse Undersøgelser, nødte ham dog til at afbryde Studierne over Maltens proteolytiske Enzym, men han havde allerede da naaet saa vigtige Resultater angaaende dette Æmne, at jeg med Tilladelse fra Carlsberg Laboratoriets Bestyrelse og min nuværende Chef, Hr. Dr. phil. S. P. L. Sørensen, paa dette Sted aftrykker, hvad der herom findes i hans efterladte Forsøgsjournal, som han selv i sin Tid stillede til min Disposition¹.

I Stedet for at forsøge en Renfremstilling af Enzymet ved Fældning med Alkohol-Æter o. l., som Forgængerne havde benyttet, og i rigtig Erkjendelse af, at slige langvarige Operationer kun vilde svække Fermentevnen, har Kjeldahl (saa vidt det kan ses af hans Forsøgsjournal) strax besluttet sig til at bruge friske Udtræk af de anvendte Plantedele, ligesom han havde gjort det ved Diastaseundersøgelserne. Udtrækkene have været tilberedte paa omtrent samme Maade som meddelt p. 125 i 1ste Bd. af Carlsberg-Laboratoriets Meddelelser, ved c. 1 Times Digestion af 1 Del Malt med 3—4 Dele Vand (uden nogen Tilsætning). Han har dog i forskellige Forsøg anvendt baade Udtræk af Grøn malt, Luftmalt, Kølle malt og Maltspirer, naturligvis med vexlende Forhold mellem den anvendte Malt- og Vandmængde, og med alle Objekter har han faaet positive Resultater (omend kun svage med Maltspirer).

¹ Det var i Overensstemmelse med Kjeldahls store Beskedenhed og hele Forskningssæt, at han aldrig offentliggjorde Arbejder, der efter hans Mening ikke havde faaet en vis Afslutning. Sine Undersøgelser over det proteolytiske Enzym i Malt har han selv betragtet som kun orienterende og har da, skjønt han ikke tvivlede om Enzymets Existens og havde sikre Beviser derfor, holdt sine Resultater tilbage under de mange Tvistigheder, der senere kom offentlig frem om dette Spørgsmaal. Da jeg blev ansat som hans Assistent, bad han mig om nærmere at forfølge Opgaven og saa vidt muligt finde Lovene for Enzymets Virkemaade efter lignende Principer, som han havde fulgt under sine Undersøgelser over Diastase og Invertase.

Han har ladet sine Udtræk virke paa Opløsninger af Hvede-Gluten (fremstillet ved Udvaskning paa Haanden af Hvedemel efter Ritthausens Metode) i c. 0,2 procentholdig saltsur, eddike- eller mælkesur Væske.

For at følge Enzymvirkningen har han tilsidst som Fældningsmiddel valgt Cupridsulfat + Natriumhydroxyd + Seignettesalt (der fælder Gluten men ikke dets proteolytiske Omdannelsesprodukter) efter i Forvejen meget omhyggeligt at have prøvet de forskellige da anvendte Æggehvidefældningsmidlers Værdi i saa Henseende. Fældningsmidlet blev tilberedt af 25 Gram Cupridsulfat pr. Liter Vand og en Natriumhydroxyd- + Seignettesalt-Opløsning, som den anvendes til Fehlings Væske (63 Gm. Natriumhydroxyd og 173 Gm. Seignettesalt paa $\frac{1}{2}$ Liter) men fortyndet i Forholdet 1:10. Efter Fældningen hældtes først den ovenstaaende Væske paa Filtret, dernæst Bundfaldet med noget Vand, og endelig fyldtes Filtret endnu 2 Gange med Vand. Ved sidste Udvaskning blev Filtratet lidt uklart. Filter med Bundfald tørredes til konstant Vægt ved c. 100° og vejedes, hvorefter de glødedes, og den fundne Askemængde (hovedsagelig Kobber) subtraheredes fra. Under Enzymets Indvirkning forandredes Glutenet saaledes, at en Del unddrog sig Fældningen med Cupridsulfat.

I de nedenanførte Forsøg anvendtes 10 Ccm. af en 2 procentholdig Glutenopløsning (i 0,4 procentholdig vandig Mælkesyreopløsning) samt 10 Ccm. Maltudtræk fremstillet af 1 Del Malt (Kølle-malt) paa 3 Dele Vand. Forsøg, i hvilke Fermentet i Forvejen var destrueret ved Opvarming, angives af Kjeldahl som »passive» i Modsætning til de andre, de »aktive«. De følgende Angivelser citeres omtrent ordret efter hans Forsøgsjournal:

»Forsøg over Temperaturens Indflydelse. 1 Times Virkning. Forsøgsvæskerne blandede koldt.

	Kobberilte-Albumin	Omdannet
18° passiv	185 Mgm.	0 Mgm.
18° aktiv	174 —	11 —
40° —	102 —	83 —
50° —	71 —	114 —
60° —	88 —	97 —
60° passiv	184 —	1 —

Da de passive Prøver ved 18° og 60° stemmer, har Temperaturforhøjelsen alene altsaa ingen kendelig Omdannelse tilføje.

	Kobberilte-Albumin		Omdannet
49° aktiv	57	Mgm.	114 Mgm.
59° —	78	78 —	93 —
— —	79		
64 ¹ / ₂ ° —	112	114 —	57 —
— —	117		
Passiv	171	—	0 —

Glutenopløsning og Maltudtræk forud opvarmede til Forsøgs-temperaturen. 1 Times Indvirkning.

	Kobberilte-Albumin		Omdannet
44° aktiv	115	Mgm.	68 Mgm.
50 ¹ / ₂ ° —	96	96 —	87 —
— —	96		
55° —	98	101 —	82 —
— —	104		
60° —	124	127 —	56 —
— —	130		
65° —	161	162 —	21 —
— —	162		
70° —	172	—	11 —
— Passiv	182	183 —	0 —
— —	184		

Optimum altsaa mellem 50¹/₂° og 55°.

Forsøg over Tidens Indflydelse. Forvarming¹.

	Kobberilte-Albumin		Omdannet
Passiv	177	Mgm.	0 Mgm.
5 Min.	161	165 —	12 —
—	168		
10 Min.	151	153 —	24 —
—	155		
20 Min.	131	133 —	44 —
—	136		
30 Min.	121	—	56 —
1 Time	112	—	65 —
3 —	74	—	103 —
6 —	50	—	127 —

¹ Der findes her som ved de følgende Forsøgsrækker i Journalen ingen Angivelse af Temperaturen, men denne har sikkert været omkring det fundne Optimum.

Forsøg over Fermentmængdens Indflydelse. $1\frac{1}{4}$ Times Indvirkning.

	Kobberilte-Albumin	
10 Ccm. Glutenopl. + 10 Ccm. Maltudtræk, passiv	166	} 168 Mgm.
— — — — —	171	
10 Ccm. Glutenopl.....	146	} 147 —
— — — — —	147	
10 Ccm. Gl. + 2 Ccm. Mu = 20 Ccm. ¹	123	} 131? —
— — — — —	140	
10 Ccm. Gl. + 4 Ccm. Mu = 20 Ccm.....	121	} 122 —
— — — — —	122	
10 Ccm. Gl. + 6 Ccm. Mu = 20 Ccm.....	100	} 100 —
— — — — —	100	
10 Ccm. Gl. + 8 Ccm. Mu = 20 Ccm.....	87	—
10 Ccm. Gl. + 10 Ccm. Mu	62	—

Da 10 Ccm. Maltudtræk give 168—147 = 21 Mgm. Kobberbundfald, ville 2, 4, 6, 8 Ccm. give resp. 4, 8, 13 og 17 Mgm. Virkningen af 2, 4, 6, 8, 10 Ccm. Maltudtræk er altsaa en Nedgang paa 151—131 = **20**, 155—122 = **33**; 160—100 = **60**, 164—87 = **77**, 168—62 = **106**. 10 Mgm. for hver Ccm. ville give for

2 Ccm.....	20	(20) Mgm.
4 —	40	(33) —
6 —	60	(60) —
8 —	80	(77) —
10 —	100	(106) —

Med Undtagelse af de 4 Ccm. er der altsaa ret god Proportionalitet.

Sammenligning med Pepsin. 1 Gm. Pepsin opløst i 200 Ccm. Saltsyre à 3⁰/100.

	Kobberilte-Albumin	
10 Ccm. Pepsinopl. + 10 Ccm. Glutenopl., passiv..	(filtrerer ikke)	
do. — do. — 1 Time v. 40 ⁰	54	} 54 Mgm.
— — — — —	54	
do. — do. — ved 50 ⁰	43	} 43 —
— — — — —	44	
10 Ccm. Mu + 10 Ccm. Glutenopl. 1 Time v. 40 ⁰ ..	125	} 126 —
— — — — —	127	

¹ Rumfanget er altid bragt op til 20 Ccm. ved Tilsætning af Vand.

						Kobberilte-Albumin
10 Ccm. Mu. + 10 Ccm. Glutenopl.	1 Time ved 50°	82)	84 Mgm.			
— — — — —	— — — — —	85)				
do.	— do. — — —	passiv...	175			—
do.	udvasket med meget Vand (5 Gange) ..			171		—
do.	ikke ganske neutraliseret.....			175		—

Pepsin virker altsaa ligeledes stærkere ved 50° end ved 40°.

Udvaskning med meget Vand bringer Vægten kun lidt ned, ufuldstændig Neutralisation slet ikke.» —

Med disse Forsøg har Kjeldahl tilfulde bevist Existensen af et proteolytisk Enzym i Malt og allerede draget vigtige Grundlinjer for dets Afhængighedsforhold til ydre Faktorer. Vare disse Resultater blevne offentliggjorte, havde man kunnet spare sig det Arbejde, som senere er gjort for at modbevise dets Existens.

I Aaret 1887 paaviste som nævnt J. Reynolds Green med Sikkerhed et proteolytisk Enzym i Frø og Kimplanter af *Lupinus hirsutus*¹ og senere (1890 og 1892) i *Ricinus communis*² og *Cucumis utilissimus*³. Disse Undersøgelser skulde ikke have været omtalte her, hvis de ikke ved den Metode, der anvendtes, havde været af afgørende Indflydelse paa andre Arbejder, der havde spirende Byg som Genstand. Efter ved Dialyse at have befriet et Planteudtræk for diffusible Stoffer, hvoriblandt ogsaa saadanne (Peptoner), der give Biuretreaktion, paaviste Green en ny Peptondannelse og Produktion af krystallinske Forbindelser som Leucin og Tyrosin, naar der til det omtalte Udtræk sattes Fibrin og 0,2 Procent Salthsyre. Hermed var det bevist, at saavel spirende som hvilende Frø kunne føre proteolytiske Enzymer endog af dybtgaaende, nærmest tryptisk Art, og der var jo saaledes à priori ikke noget i Vejen for at antage, at det samme kunde være Tilfældet med spirende Byg.

Greens Arbejder ere af saa meget større Betydning, som de ikke udelukkende støtte sig til den i Dialysatet indtrædende Biuretreaktion, men ogsaa til Paavisningen af de dyberegaaende krystallinske Spaltningsprodukter af Æggehvide-stoffer, Leucin og Tyrosin, der ere saa karakteristiske for Pankreassekretets (Trypsinets) Virkninger. Gorup-Besanez', Krauchs og flere af de senere Undersøgelser have sikkert lagt alt for stor Vægt paa Biuretreaktionen

¹ Green: »On the changes in the proteids in the seed which accompany germination«. Philosoph. Transactions CLXXVIII B 39 (1887).

² Green: On the germination of the seeds of the Castor-oil plant. Proceed. Roy. Soc. XXXXVIII 370 (1890).

³ Green: On the occurrence of vegetable trypsin in the fruit of *Cucumis utilissimus*. Annals of Botany VI 195 (1892).

som Kriterium paa Proteolyse. Ved Pepsingjæringen er den anvendelig, men ved de her omtalte Enzymvirkninger, der sikkert ere af mere dybtgaaende Natur, optræde de biuretgivende Stoffer, navnlig efter en længere Forsøgstid, ofte kun i meget ringe Mængde, idet de hurtigt nedbrydes videre til ikke-proteinagtige Forbindelser (Hexonbaser, Aminer osv.).

Det næste Arbejde over proteolytiske Enzymer i Planteriget, der bl. a. ogsaa beskæftiger sig med spirende Byg, er af Rich. Neumeister (1894)¹. Han anvender en særegen Metode til Fremstilling af Enzymet, idet han benytter sig af den af Wittich og Wurtz gjorte lagttagelse, at friske Fibrintraade udtrække proteolytiske Enzymer af Opløsninger og absorbere dem eller kondensere dem paa deres Overflade. Han rev nu de anvendte Plantedele (spirende Frø eller Kimplanter) sammen med noget Sand i en Morter til en fin Grød, »der reagerede tydeligt sur«; derefter tilsatte han noget Vand, og efter flere Timers Henstand blev saa Massen presset gennem et Linned-Tørklæde. Det uklare Extrakt bragtes i en Drechselsk Vaskeflaske, hvori der anbragtes nogle Fibrintraade, og ved Hjælp af en Aspirator ledeses der i 2 Timer Luft igjennem Væsken, saa alle Dele af den kom i Berøring med Fibrintraadene. Derefter hældtes Væsken fra, Fibrintraadene bleve vaskede med noget Vand og anbragte i en Flaske, der indeholdt 0,8 procentholdig Oxalsyre. Denne Flaske sattes i Thermostat, hvorefter Fibrinet opløstes fuldstændig i Løbet af nogle faa Timer, medens det holdt sig næsten uforandret selv efter 2 Dages Forløb i et samtidig anstillet Kontrollforsøg, i hvilket det henstod i Oxalsyre under iøvrigt samme Forhold, kun at det ikke i Forvejen havde været i Berøring med en Enzymopløsning (Planteudtræk).

Paa denne Maade undersøgte Neumeister Byg af forskjellig Herkomst, som blev opblødt i Vand og derpaa bragt til at spire i fugtigt Sand eller vaade Savspaaner, indtil Kimstængel og Rod tilsammen havde naaet en Længde af c. 5 Cm. I dette Materiale var Fermentevnen dog kun ringe, da en Peptondannelse ikke var paaviselig i Fibrinopløsningen selv efter 5 Dages Indvirkning; den indeholdt paa denne Tid, efter hans Angivelser, ved Siden af overvejende Syntoniner kun primære Albumoser (ogsaa et Resultat).

Af Byg derimod, hvis grønne Skud allerede havde naaet en Længde af 16—20 Cm., fik han i flere Tilfælde meget fermentrige

¹ R. Neumeister: Über das Vorkommen und Bedeutung eines eiweisslösendes Enzyms in jugendlichen Pflanzen. Zeitschr. f. Biologie XXX 447—463 (1894).

Extrakter, idet Fibrinet opløste sig fuldstændig efter 2—3 Timer og regelmæssigt leverede noget Pepton efter 48 Timer. I et enkelt Tilfælde, hvor Skud og Rod tilsammen næppe vare 3 Cm. lange, iagttog han allerede efter 1 Time en fuldstændig Opløsning af Fibrinet og kunde efter 24 Timer paavise en betydelig Peptondannelse. Derimod fik han med Bygkimplanter, hvis Skud og Rod kun var 0,5—1 Cm. lange, saavel som med uspiret, udblødt Byg kun negative Resultater.

Naar Neumeister anvendte Oxalsyre af den omtalte Koncentration (0,8 %) i Stedet for Saltsyre, som Forgængerne havde benyttet, var det, fordi han mente at have gjort den Erfaring, at Enzymet i 0,2 procentholdig Saltsyre kun virkede i Begyndelsen og derefter lidt efter lidt destrueredes, medens Oxalsyre i en Styrke af 0,4—0,8 % havde en langt gunstigere Indflydelse. I Enzymets Forhold til Saltsyre fandt han en Lighed med Trypsinet, men hvis han benyttede en kogsaltholdig (neutral) Væske eller 0,2 procentholdig Sodaopløsning (alkalisk), udeblev dog altid enhver Virkning. »Trypsinagtig Karakter besidder Enzymet altsaa ikke« — slutter han.

Han mener altsaa, at Bygkimplanter vel indeholde et proteolytisk Enzym, men først i et vist fremskredent Spiringsstadium. Naar Gorup-Besanez har fundet det i Køllemalt, men ikke i Luftmalt, maa det da bero paa, at det første har spiret længere end det sidste, uden at han har lagt Mærke dertil¹.

I 1897 har W. Johannsen² ved Mæskningsforsøg paavist et proteolytisk, amiddannende Enzym i modnende Bygkorn, der have været narkotiserede med en ikke for svag Dosis Narkotikum (Æter, Chloroform). — Naar der altsaa i det umodne Bygkorn findes proteolytisk Fermentevne, er denne vel ogsaa paa Forhaand at vente i det spirende, om den end i det fuldmodne Korn kan være nedstemt saa vidt, at den er vanskeligere at iagttage. —

Dette er, hvad der mig bekendt var offentliggjort af Under-

¹ I et Arbejde af Fermi & Buscaglioni: Die proteolytischen Enzyme im Pflanzenreich. Centralbl. für Bakteriologie. II Abt. V 24, 63, 91, 125, 145 (1899), der forøvrigt ikke behandler Byg, angives det (uden Henvisninger til noget bestemt Arbejde), at Mroczkowski (vistnok i Begyndelsen af Halvfemserne) af spirende Byg har udtaget et Enzym, der kunde sonderdele Fibrin saavel ved neutral som alkalisk Reaktion, men dog bedst i Nærværelse af 0,2 procentholdig Saltsyre.

² W. Johannsen: Studier over Planternes periodiske Livsytringer I. Det danske Videnskabernes Selskabs Skrifter [6] mathem.-naturv. Afd. VIII (5) 275—394 (1897).

søgelser over det foreliggende Æmne, da jeg paabegyndte mit Arbejde, og som har haft Indflydelse paa Planen for og Gangen i dette. Efter Kjeldahls Undersøgelser kunde jeg selvfølgelig se bort fra de benægtende Angivelser, ligesom jeg heller ikke har lagt synderlig Vægt paa de af mine Forgængere anvendte Forsøgsmetoder med Undtagelse af Kjeldahls, idet denne havde antydnet en langt mere frugtbar Vej til at forfølge Enzymets Virkninger og skaffe sig Oplysning om dets Natur.

Siden 1899 er der imidlertid fremkommen en Række Arbejder over Spørgsmaalet, som jeg her kun ganske kort skal omtale, dels fordi de ikke have givet mig Anledning til at forandre min en Gang lagte Arbejdsplan, dels fordi jeg finder det mere praktisk i den specielle Del paa de paagældende Steder at jævnføre med mine egne Resultater, hvad der er fundet af andre.

Boleslaw de Verbno Laszczynski («Ueber das Vorkommen eines peptonisierenden Enzyms (Peptase) im Malz und Versuche zur Trennung der stickstoffhaltigen Bestandteile in Malz, Würze und Bier»)¹ kommer til følgende Resultater: »1) Et peptoniserende Enzym kan ikke paavises i Malt; 2) ligesaa lidt findes der paaviselige Mængder af Peptoner i Malt, Urt og Øl, og 3) er Opløseligheden af de kvælstoffholdige Stoffer i Malt afhængig af Extraktionsbetingelserne«. Han har bl. a. gjentaget de ovenfor beskrevne Neumeisterske Forsøg med at lade Enzymet virke paa Fibrin i 0,8 procentholdig Oxalsyre efter at have udtrukket det af et Maltudtræk ved Hjælp af selve Fibrintraadene. Forsøg med grønne Bygkim paa 6—9 Cm. Længde gav end ikke Biuretreaktion i Opløsningen efter 6 Timer ved 40°, Forsøg med Luftmalt gav vel Biuretreaktion men ligesaa lidt som Forsøg med mørkt Kølle malt nogen nævneværdig Opløsning af Fibrinet, medens et Parallelforsøg med Pepsin saa at sige øjeblikkelig frembragte en fuldstændig Opløsning. Endelig fik han i et Forsøg, hvor Fibrinet efter Grützners Angivelse² var farvet med Carminrødt og derefter digereret med 10 Gm. Malt i 2 Timer, et ganske farveløst Filtrat, i hvilket Kvælstofforøgelsen kun var naaet fra 24,53 til 25,21 = 0,7 Mgm. — Dernæst har han med lyst Kølle malt anstillet Mæskningsforsøg af forskjellig Varighed og ved forskjellige Temperaturer, hvor han efter Extraktionen i forskjellige Prøver bestemte Total-Kvælstof, koagulabelt Kvælstof og den Mængde

¹ Laszczynski: Zeitschr. für das ges. Brauwesen 22 Jahrg. p. 71, 85, 123, 140 (1899).

² Grützner: Archiv f. Physiologie VIII, 452 (1874).

Kvælstof, der fældes successivt af henholdsvis Cupridhydroxyd (Proteinstoffer), Zinksulfat (Albumoser) og Fosfor-Wolframsyre (Peptoner og Ammoniak). Men han gaar hele Tiden ud fra den forudfattede, urigtige Mening, at Enzymet maa virke paa samme Maade som Pepsin. Han udtrykker sig p. 84 bl. a. saaledes »Bedeutend erniedrigt würde der Phosphorwolframsäurestickstoff, während man doch bei einer enzymatischen Einwirkung zweifellos eine Erhöhung desselben durch Bildung von Albumosen und Peptonen hätte erwarten sollen. Die Annahme, dass die Spaltung der Proteinstoffe bereits zur Bildung von Amidon fortgeschritten sei, ist ganz unzulässig. Ein derartiger Vorgang würde die Anwesenheit eines Enzyms voraussetzen, das noch weit energischer auf die Eiweisskörper des Malzes einwirkt als Pepsin«. Hans Forsøg ere i Virkeligheden ganske usammenlignelige og bevise intet; skulde det være noget, var det da Tilstedeværelsen af et Enzym, der danner Stoffer, som unddrage sig Fosfor-Wolframsyrefældningen, hvilket ogsaa stemmer med, hvad jeg har fundet. — Naar han ikke ved Hjælp af Biuretreaktionen har kunnet paaavise Peptoner i Urt og Øl eller i hvert Fald kun minimale Mængder deraf, er dette dog maaske et Resultat, der har nogen Betydning, og som bør noteres.

W. Loë offentliggjør samme Aar et Arbejde¹ (»Enthält das Malz ein peptonisierendes Enzym?«), som han slutter med følgende kategoriske Udtalelser: »1) Ein eiweisslösendes Enzym im Malz existiert nicht. 2) Die im Malz vorhandenen, in Wasser löslichen Eiweisskörper werden während der Keimungsprozesses gebildet, und erscheint es wahrscheinlich, dass die Menge der in Lösung gegangenen Stoffe von der Art und Dauer der Extraktion abhängig ist«. Disse Udtalelser støtter han til Forsøg, i hvilke han tilbereder Udtræk af malet Byg, dels med Maltudtræk, dels med Vand. Han bestemmer kun Total-Kvælstof, men Tallene herfor omregner han til Protein (!) og faar da lige meget udtrukket af sit Byg, enten han anvender Maltudtræk eller Vand. — Disse Forsøg ere ganske værdiløse og kunde for saa vidt godt være forbigaaede her, men medtages kun for Fuldstændighedens Skyld.

Er disse to Arbejder saaledes i og for sig uden Betydning, have de dog sikkert virket fremmende paa Spørgsmaalets Løsning, ved at Folk, der ikke følte sig overbeviste af dem, tog saa meget ivrigere fat paa at undersøge Sagen.

Da Loës Arbejde kom (i Begyndelsen af April 1899), havde jeg foruden Kjeldahls gamle Forsøg talrige nye, der var fuldt

¹ W. Loë: I Zeitschr. f. das ges. Brauwesen 22 Jahrg. 212 (1899).

overbevisende for Spørgsmaalet om Existensen af et proteolytisk Enzym i Malt, men min Hensigt var, ikke at offentliggjøre noget herom, før jeg havde bragt mit Arbejde til en vis Afslutning. Da der imidlertid i Sommeren 1900 kom en Række Publikationer¹, som jeg senere jævnligt vil vende tilbage til, saa jeg mig ogsaa nødsaget til at give en foreløbig Meddelelse om nogle af mine Forsøg (»Über das proteolytische und ein eiweisscoagulirendes Enzym in keimender Gerste (Malz)«) i Zeitschr. für physiol. Chemie XXXI, 79—97, indsendt ²⁰/₉ 1900.

Windisch & Schellhorn havde paavist det proteolytiske Enzym ved at lade Maltudtræk virke paa Gelatine efter Fermis Metode². Det viste sig, at flydende Gelatine mistede Evnen til at storkne, eller storknet Gelatine efterhaanden gjordes flydende, naar Maltudtrækket havde paavirket den en vis Tid ved en passende Temperatur og helst ved alkalisk Reaktion. Andre Forsøg med Selvpeptonisering af Maltudtræk gave derimod bedre Resultater ved Nærværelsen af en ringe Mængde (helst organisk) Syre. De fandt Enzymet saa vel i Kølle- som i Grøn malt og i enkelte Tilfælde ogsaa i uspiret Byg, navnlig naar dette var slet høstet eller særlig rigt paa Æggehvitestof. Dets Virkninger forfulgte de ved at lade det virke i thymol- eller chloroformholdig Væske og før og efter Forsøgene at bestemme enten Formindskelsen af koagulable Albuminstoffer (ved Kogning) eller Forøgelsen af Albumoser (ved Fældning med Zinksulfat); i enkelte Tilfælde bestemte de ogsaa Peptoner (ved i Filtratet fra Albumoserne at fælde med Fosfor-Wolframsyre) eller det saakaldte Amidkvælstof (ved Kogning af Filtraterne fra Albuminerne med Saltsyre i en Time og Destillation med Natriumhydroxyd af den dannede Ammoniak). — Til Detaillerne i deres Forsøgsresultater vil jeg senere komme tilbage.

Fernbach & Hubert paaviste Enzymets Existens paa samme Maade, dels ved Maltudtrækkenes Evne til at gjøre Gelatine flydende, dels ved de Forandringer, der foregaa med deres kvælstofholdige

¹ Af Windisch & Schellhorn: Ueber das eiweisspaltende Enzym der gekeimten Gerste. Wochenschrift für Brauerei XVII 334 ff. (1900.)

Fernbach & Hubert: Sur la diastase protéolytique du malt. Compt. rend. CXXX 1783—85 (²³/₆ 1900.)

Fernbach & Hubert: De l'influence des phosphates et de quelques autres matières minérales sur la diastase protéolytique du malt. C. r. CXXXI 293 (²³/₇ 1900.)

Petit & Labourasse: Sur la solubilisation des matières azotées du malt. C. r. CXXXI 349 (³⁰/₉ 1900.)

² Cl. Fermi: Centralbl. für Bakteriologie II Abt. V, 25—27 (1899).

Bestanddele, naar de udsættes for en Autodigestion. (De gjorde deres Maltudtræk sterile ved Filtration gennem Chamberlandske Filtre.) De gjøre opmærksom paa, at Nedbrydningen af Æggehvidestofmolekulet gaar (navnlig ved forholdsvis lavere Temperatur, c. 40°) langt videre end til, hvad man sædvanlig benævner »Peptoner«, idet en stor Mængde af Kvælstofforbindelserne efterhaanden unddrage sig Fældninger med Fosfor-Wolframsyre. — De have tillige interessante Undersøgelser over Fosfaternes, andre uorganiske Saltes og Syrers Indflydelse paa Enzymets Virkninger og have endelig ogsaa ved Fældning med Vinaand faaet et Stof, som var i Stand til at omdanne de ved Kogning af Maltudtræk koagulable og de i Byg indeholdte uopløselige Æggehvidestoffer.

Petit & Labourasse have anstillet Autodigestionsforsøg i Lighed med Windisch & Schellhorn's og derefter bestemt Proteïn-Kvælstof, den Mængde Kvælstof, der fældes med Zinksulfat og Fosfor-Wolframsyre, samt hvad der efter Indvirkning af fortyndet, kogende Saltsyre lader sig afdestillere med Natriumhydroxyd som Ammoniak. De finde lignende Resultater som deres andre samtidige, og mene desuden at have paavist en Arginindannelse.

I den af mig selv offentliggjorte lille Afhandling har jeg meddelt nogle Resultater om Enzymets Afhængighed af Temperaturen og forskellige fremmede Stoffer (Antiseptika, Syrer) samt nogle Mæskningsforsøg og Forandringer herunder af de kvælstofholdige Stoffer, der fældes af Garvesyre. Jeg har tillige paavist et koagulerende Enzym (Løbe), der forekommer i Maltudtrækkene sammen med det proteolytiske.

Endelig er der offentliggjort nogle Undersøgelser af R. Wahl (i »American Brewers Review« 1900), der kun have været mig tilgængelige gennem Referater¹, men som gaa ud paa at forfølge Æggehvidestoffernes Forandringer under Mæskningen, idet Forfatteren gaar ud fra, at disse skyldes Peptasens Virksomhed — og af Ehrich², der nu ogsaa udleder Peptasens Existens af nogle Mæskningsforsøg, han tidligere har anstillet.

Man ser, at Spørgsmaalet har ligget i Luften i disse Aar, og naar det har fundet Bekræftelse fra saa mange Sider, og forskellige Metoder have ført til samme Resultater, maa det vel nu betragtes som godtgjort, at der virkelig eksisterer et saadant Enzym.

¹ Bl. a. i Wahl & Henius: American Handy-book of the Brewing, Malting and Auxiliary Trades, p. 424—433, 707—08. Chicago (1901).

² Ehrich: Allg. Brauer- und Hopfenzeitung. 1. März 1901.

De nævnte Arbejder af Green og nyere af Butkewitsch¹ om proteolytiske Enzymer i forskellige andre Planter og specielt hos Leguminoser, kunne kun bestyrke den Antagelse, at disse Enzymer have en lignende vid Udbredelse i Planteriget som i Dyreriget.

Opgaven.

Idet jeg da — navnlig støttende mig til Kjeldahls Forsøg — gik ud fra, at der virkelig eksisterer et proteolytisk Enzym i spirrende Byg og Malt, satte jeg som min Opgave:

1) At føre yderligere Beviser for dette Enzyms Existens;

2) at undersøge kvantitativt Proteolysens Afhængighed af forskellige, navnlig ydre, Faktorer; og

3) at skaffe saadanne Oplysninger om Enzymets (resp. Enzymernes²) Natur og Virkemaade, at det blev muligt at bestemme dets (resp. deres) systematiske Plads blandt de hidtil kendte beslægtede Enzymer.

I Afsnittet om Proteolysens lovmæssige Afhængighedsforhold til ydre Faktorer vil der findes tvingende Beviser for Antagelsen af Enzymer som Aarsag til denne Proces. Og saadanne ere jo under mit Arbejde tillige fremkomne fra anden Side, gennem Windisch & Schellhorns, Fernbach & Huberts, Petit & Lauborasse's Undersøgelser.

Den anden Side af Sagen har dog været min Hovedopgave, idet Maalet for mig her har været at skaffe lignende Data frem for Proteolysens Forløb, som Kjeldahl har skaffet til Veje for Sukkerdannelsen under Diastasens og Invertasens Indvirkning.

Under dette Arbejde have en Række andre Spørgsmaal trængt sig paa, der stode i nøje Sammenhæng hermed, og hvis Løsning skulde bidrage til Forstaaelsen af selve Proteolysens Karakter, nemlig saadanne, der angaa Enzymets (resp. Enzymernes) Natur og Virkemaade, Oprindelse og Skæbne under Spirings- og (i Maltgøjeriet) Tørringsprocessen osv.

Dog har jeg i dette Arbejde altid først og fremmest taget Sigte paa Forhold af rent teoretisk Interesse, som muligt kunde faa Betydning for Enzymforskningen i Almindelighed, uden at jeg derfor har tabt af Syne den praktiske Betydning, som den Slags Undersøgelser kunde faa, navnlig i Bryggeriteknikken. Forsøg af

¹ Butkewitsch: Berichte d. d. botan. Gesellsch. XXIII 358—364 (1900) og Zeitschr. f. physiol. Chemie XXXII 1—53 (1901).

² Idet det af mine Forsøg efterhaanden fremgik, at der fandtes mere end 1 proteolytisk Enzym.

Interesse i saa Henseende har jeg allerede offentliggjort i min foreløbige Meddelelse i Zeitschrift für physiologische Chemie (XXXI, p. 79, 1900), men disse og flere nye, som særlig beskæftige sig med Proteolysen under Brygningsprocessen, forbeholder jeg mig at komme tilbage til i en senere Publikation.

II.

DE ANVENDTE FORSØGSMETODER.

Mine første orienterende Forsøg blev anstillede nærmest efter den af Kjeldahl benyttede Metode (se pag. 6), idet jeg dog i Stedet for Køllemalt anvendte knust Grøn malt (hvoraf 1 Del paa 2 Dele Vand) til Fremstilling af de Udtræk, der indeholdt de proteolytiske Enzymer, som jeg lod virke paa Gluten af Hvedemel. Jeg fik herved Resultater, der svarede til de af Kjeldahl fundne, men der var dog ligesom i dennes Forsøg ofte mellem Parallelbestemmelser lidt for store Afvigelser, som det var ønskeligt at undgaa.

Nu gav det anvendte Gluten heller ikke nogen homogen Opløsning. Den blev aldrig fuldstændig klar og gjennemsigtig, og ved Henstand udfældedes altid noget (Stivelse, maaske ogsaa kvælstofholdige Bestanddele). Dertil kom, at den koagulerede under Indvirkning af det i Maltudtrækket forekommende, før omtalte koagulerende Enzym — der forøvrigt efter mine Undersøgelser ogsaa kunde faa Mælk til at koagulere¹ — og dette bevirkede utvivlsomt, at Angrebspunkterne for Enzymet blev færre, og dets Virkninger derfor svagere.

Dette bragte mig til at forsøge at anvende et andet Æggehvidestof, nemlig det, der lader sig udtrække af Hvedemel med 55 procentholdig Alkohol, og som Kjeldahl har kaldt »Glutin«². Dets Fremstillingsmaade og Egenskaber skal jeg nedenfor udførligere beskrive, men her kun anføre, at det med svage Syrer giver en fuldstændig klar Opløsning, der ikke koagulerer hverken ved Kogning eller under Indvirkning af Løbefermentet, medens det paa den anden Side lader sig kraftigt paavirke af Maltudtrækkets proteolytiske Enzymer.

Men nu opstod der en ny Vanskelighed; thi dette Stof gav med Cupridsulfat-Natriumhydroxyd-Seignettesalt et i højeste Grad klæb-

¹ Se Fr. Weis: Zeitschrift f. physiol. Chemie XXXI, 96 (1900).

² Se J. Kjeldahl: Forhandlingerne ved Naturforsker mødet i København 1892 eller Carlsberg Laboratoriets Meddelelser V, p. XII (1900).

Fr. Weis: Proteol. Enzymer.

rigt Bundfald, som det ikke var muligt at fjerne fra Bægerglasset paa en saadan Maade, at der kunde udføres en kvantitativ Bestemmelse. Det gjaldt derfor om at finde et andet Fældningsmiddel. Efter at have prøvet forskellige (tunge Metalsalte, Trichloreddikesyre m. fl.), der gave mere eller mindre tilfredsstillende Resultater, standsede jeg foreløbig ved Garvesyren, der i Forbindelse med en Smule Natriumchlorid eller -acetat ikke blot gav smukke Bundfald men ogsaa Filtrater, der hurtigt og klart gik igjennem Filtrere. Den udfældede upaavirket »Glutin« fuldstændig, men derimod kun en Del af det af Maltudtrækket paavirkede, og Bundfaldet samlede sig hurtigt som en voluminøs Masse, hvori Kvælstoffet let kunde bestemmes.

For nu at undgaa Udvaskning, hvorved muligvis noget af det en Gang fældede ogsaa kunde gaa i Opløsning, foretrak jeg i Stedet for Bundfaldene at anvende en Kvotadel af Filtraterne for efter Kjeldahl Metode heri at bestemme, hvor meget Kvælstof der før og efter Proteolysen unddrog sig Fældningen med Garvesyre, idet denne Fremgangsmaade skønnedes at være langt sikrere end den at anvende Bundfaldene.

Paa et senere Stadium i mit Arbejde har jeg endvidere i Stannochlorid fundet et udmærket Fældningsmiddel til at afdekke Faser i Proteolysen, som Garvesyren ingen Oplysning giver om. Men om disse to Stoffers Værdi og Anvendelse som Fældningsmidler skal jeg strax give nærmere Oplysninger, idet jeg gaar over til at beskrive de Metoder, der bleve anvendte i langt det overvejende Antal af mine Forsøg. Disse, som jeg vil kalde »Grundforsøgene«, gik ud paa at finde de almindelige Love for Enzymernes Virkning. De Metoder, der bleve anvendte i specielle Tilfælde, for at finde enkelte Sider af Enzymernes Natur, ville senere blive beskrevne paa de paagældende Steder. (Se forøvrigt p. 32—33).

Maltudtrækkets Tilberedning og Behandling.

Alle mine Grundforsøg bleve anstillede med Udtræk af færdigt Grøn malt 3: paa det Stadium (paa den 9de Spiredag), da Spiringen afbrydes ved Opvarmning paa Køllen. Forsøg, som jeg senere skal omtale, have vist, at man paa dette Stadium i Bygkimplantens Liv i Reglen finder den største proteolytiske Fermentevne, selv om der kan være ret store individuelle Forskelligheder mellem de forskellige Maltprøver. Udtrækkene bleve altid tilberedte, umiddelbart efter at Malten var hentet fra Maltgjørreriet, saa den ikke havde faaet Tid til at tørre ind i Luften. Malten blev knust

ved 1 à 2 Gange at passere gennem en Kjødhakkemaskine, hvorefter den dannede en tyk Grød. Denne blev da rørt ud i Vand; i de allerførste Forsøg benyttede jeg 1 Del Malt paa 2 Dele Vand, men senere blev der til 3 Dele Malt kun benyttet 4 Dele Vand. Dette gav saavel kvælstofrigere som kraftigere virkende Udtræk. Maltgrøden rørtes gjentagne Gange rundt i Vandet i $1\frac{1}{2}$ —1 Time ved Stuetemperatur; enkelte Gange henstod den derefter i Isskabet (ved 4° à 5°) til næste Dag, men i Reglen blev den efter den halve eller hele Time filtreret gennem et Foldefilter paa Foldetragt. Det først gennemløbne Filtrat hældtes tilbage, indtil det (efter 3—4 Omhældninger $\approx$ c. 1 Kvarters Forløb) løb fuldstændig klart igennem. Derefter stilledes det hele i Isskabet, hvor Filtreringen foregik yderst langsomt, til næste Dag. Udbyttet var da eksempelvis: af 670 Gm. Malt + 892 Ccm. Vand = 540 Ccm. Maltudtræk (Mu), af 890 Gm. M. + 1187 V. = 800 Mu, af 1000 Gm. M. + 1333 Ccm. V. = 980 Mu. Tørstofindholdet i den anvendte Malt varierede ikke saa ganske lidt, f. Ex. mellem følgende Værdier: 49,35, 50,44, 53,40 og 55,99 %. At de forskellige Bygsorters Kvælstofindhold ogsaa vilde variere, var naturligvis paa Forhaand at vente. Hvor store Variationer der her kan være Tale om, vil fremgaa af følgende Tal, der angive Mgm. Kvælstof i 10 Ccm. Maltudtræk af forskellige Prøver, tilberedte som ovenfor nævnt af 3 Dele Malt og 4 Dele Vand.

Af Byg fra 1898	Af Byg fra 1900
18,35 Mgm. Kvælstof.	15,00 Mgm. Kvælstof.
16,66 — —	19,62 — —
18,37 — —	19,21 — —
16,35 — —	19,66 — —
17,21 — —	18,88 — —
17,70 — —	20,04 — —
19,33 — —	19,10 — —
	18,84 — —

Der er her en tydelig Forskjel paa de to Aargange, men indenfor hver af disse ere Variationerne med en enkelt Undtagelse smaa.

Lignende Variationer som i Tørstof- og Kvælstofindhold ville ogsaa findes i Maltudtrækkenes Fermentevne, uden at der just behøver at være Proportionalitet mellem disse Egenskaber.

I Reglen bleve Maltudtrækkene benyttede, Dagen efter at de vare tilberedte ($\approx$ samme Dag som Filtreringen var tilendebragt),

men de holdt sig forøvrigt usvækkede ved Henstand i Isskabet i 2—3 Døgn og endnu længere, hvis de holdtes nedpakkede i Is (i en Isspand) ved 0° . Hvor det var ønskeligt for Sammenlignings Skyld at anvende samme Udtræk til flere Forsøgsrækker, end der kunde anstilles paa en enkelt Dag, anvendtes som oftest denne Nedpakning i Is, hvorved Fermentevnen kunde holde sig usvækket, og Udtrækket forblive ganske klart og friskt i næsten 8 Dage. — Henstode Udtrækkene derimod uden Ispakning i Isskabet ved 4° — 5° , indtraadte der efter 3—4 Dage næsten altid en hæftig sur Gjæring, de bleve uklare, meget ildelugtende og tabte efterhaanden deres proteolytiske Fermentevne. — Ved Tilsætning af Toluol kunde Fermentevnen, som det vil fremgaa af senere meddelte Forsøg, holde sig omtrent usvækket i længere Tid (8—10 Dage), men dette Konserveringsmiddel benyttede jeg mig kun undtagelsesvis af. Tilsætning af Thymol, Chloroform eller Formaldehyd var uanvendelig paa Grund af disse Stoffers skadelige Indflydelse paa Enzymerne (se senere).

Maaling af Fermentevne.

For at forfølge Proteolysen kunde man underkaste Maltudtrækket en Autodigestion, da der i det altid findes Æggehvideoffer, som yderligere lade sig paavirke af de proteolytiske Enzymer. Men herved faaes kun smaa Udslag, om end noget større, naar Udtrækket gjøres svagt surt. De i Bygget værende Æggehvideoffer have jo nemlig under selve Spiringsprocessen været underkastet en fermentativ Proteolyse, og der findes da i Grønmaltsudtrækket kun en ringe Mængde, som yderligere lader sig omdanne. Mange saadanne Forsøg ere anstillede, men mest til Sammenligning og Kontrol. — Man kunde ogsaa lade Enzymerne virke paa de i Vand uopløselige Æggehvideoffer, som de forekomme sammen med i Kornet, ved Mæskning. Saadanne Forsøg har jeg ogsaa anstillet en større Række af, mest med Køllemalt. Men derved faar man ingen absolute Tal for Fermentvirkningen. Der viser sig vel en Forskydning i det procentiske Forhold mellem upaavirket og omdannet Kvælstof, men hvor stor Indflydelse Extraktionsbetingelserne have paa dette Forhold, er ikke altid let nøje at bestemme.

Underkaster man derimod et — saa vidt mulig rent — Æggehvidestof en Proteolyse ved Indvirkning af et Maltudtræk, kan man faa Omdannelsen udtrykt i absolute Tal, selv om en simpel Aflæsning af disse ikke altid er nok til at bestemme Loven

for en Faktors Indflydelse, da man ikke kan forhindre, at andre Faktorer ogsaa forandre sig under Forsøgene.

Det er denne Methode, jeg har anvendt i Størstedelen af mine Forsøg, og jeg har hertil benyttet det før omtalte i 55 procentholdig Alkohol opløselige Æggehvidestof, Kjeldahls »Glutin«, som jeg har fremstillet paa følgende Maade¹. Fineste Hvedemel (Flormel) blev udrørt omhyggeligt i smaa Portioner af sin dobbelte Vægt 55 procentholdig Alkohol, dernæst nedsvalet til 8° C. og efter nogen Tids Henstand bragt paa Chardinske Filtre, der overdækkedes med en Glasplade. Filtringen foregik yderst langsomt, tog 2—3 Dage. Det svagt opaliserende, gullige Filtrat hensesattes derefter i en Kuldeblanding c. 1 Døgn. Hvad der da ikke var udfrosset og havde samlet sig som en sejg Syrup paa Bunden, hældtes fra, og Syruppen opløstes igjen i en ringe Mængde 55 procentholdig Alkohol. Derefter anvendtes atter Udfrysning og Gjenopløsning, indtil jeg mente at have faaet et tilstrækkelig rent Produkt, der efter Opløsning i den mindst mulige Mængde af 55 procentholdig Alkohol udfældedes som et skinnende hvidt Bundfald, naar det draabevis eller i en tynd Straale blev hældt i en stor Portion absolut Alkohol. Ved at henligge under denne størknede det efterhaanden til en sprød Masse, der kunde pulveriseres med en ringe Mængde absolut Alkohol, som senere frafiltreredes paa Nutsch for Sugepumpen. Derefter foretoges Udvaskning med absolut Alkohol og til Slutning Tørring i Vakuum over Svovlsyre ved almindelig Temperatur gennem flere Dage. Paa denne Maade vandtes et let, hvidt Pulver, men Udbyttet var kun ringe i Forhold til den Mængde Mel, der toges i Arbejde (se omstaaende Tabel).

Det vilde ligge nærmest at benytte et saadant af Byg eller Malt fremstillet Æggehvidestof, men naar jeg dog har foretrukket at benytte Hvedens, er det af flere Grunde. Paa den ene Side faar man ved den ovennævnte Fremgangsmaade langt ringere Udbytte og mindre rene Produkter af Byg og Malt. Efter c. 6—7 Udfrysninger fik jeg af Maltmel et Produkt, der ikke gav ganske klare, men smudsiggule og opaliserende Opløsninger. Og disse Forhold var af ikke ringe Betydning, da jeg ved mine mange Forsøg fik Brug for ret anseelige Mængder Æggehvidestof. Paa den anden Side paavirkedes mit Hvedepræparat langt kraftigere af

¹ Metoden kort antydet af Kjeldahl i hans Meddelelse ved Naturforskersmødet i Kjøbenhavn 1892. Se ogsaa Carlsberg-Labor. Meddel. V, p. XIII. 1900.

Maltudtrækket end mine Byg- og Maltpræparater og gav saaledes kraftigere Udslag for de forskellige Faktoreres Indvirkning, hvilket vil fremgaa af senere meddelte Forsøg. Paa dette Sted skal jeg kun anføre, hvor stort Udbytte jeg fik af forskellige Portioner Mel, der toges i Arbejde.

2375 Gm. Hvedemel	gav efter 5 Udfrys.	35 Gm. = 1,47 %
5000 - - - - 2 -	127 - = 2,54 -	
5000 - - - - 2 -	170 - = 3,40 -	
2500 - - - - 2 -	61 - = 2,44 -	
3000 - - - - 2 -	102 - = 3,40 -	
4000 - - - - 3 -	141,5 - = 3,56 -	
2000 - Bygmel - - 2 -	28,2 - = 1,41 -	
2000 - Maltmel - - 6-7 -	8,4 - = 0,42 -	

Der skal her gjøres opmærksom paa, at Svingningerne i Udbyttet foruden fra Udfrysningernes Antal kunne hidrøre fra Melets større eller mindre Vandholdighed, Kornsortens Kvælstofrigdom o. l.

Det paa denne Maade vundne Æggehvidestof kaldte Kjeldahl som sagt »Glutin« (se herom senere p. 24—25) og angav nogle af dets karakteristiske Egenskaber, som jeg her kan supplere med enkelte nye Iagttagelser, idet jeg ved at variere mine Forsøgsbetingelser ofte blev nødt til først at undersøge dette Stofs Forhold og saaledes lejlighedsvis fik Oplysninger om dets forskellige fysiske og kemiske Egenskaber.

Med Hensyn til dets Opløselighed er det uopløseligt i Vand og Alkohol over 90 %, opløseligt i middelstærk Alkohol og i Alkalier (Natriumhydroxyd og norm. Natriumcarbonat) i ikke altfor svage Koncentrationer. Overfor Syrer forholder det sig forskelligt, eftersom det er organiske eller uorganiske. Af de første er Forholdet til Mælkesyre og Eddikesyre undersøgt. De laveste Koncentrationer, i hvilke 2 % af Præparatet opløste sig fuldstændigt, var 0,05 procentholdig vandig Mælkesyre ($= \frac{1}{180}$ n) og 0,03 procentholdig vandig Eddikesyre ($= \frac{1}{200}$ n), men Opløseligheden er stigende med Koncentrationen af disse Syrer, i hvert Fald op til 4 procentholdig vandig Mælkesyre og 6 procentholdig vandig Eddikesyre, de stærkeste, der undersøgte. I Saltsyre og Svovlsyre er det derimod kun opløseligt indenfor meget snævre Grænser. Ved Kogning er det muligt at faa 2 % af Præparatet opløst fuldstændigt i Koncentrationer af Svovlsyre mellem $\frac{1}{400}$ og $\frac{1}{10}$ normal. Men ved Afkøling til almindelig Temperatur udskilles igjen en Del, naar Koncentrationerne ere svagere end $\frac{1}{200}$ n eller

stærkere end c. $\frac{1}{40}$ n. I de mellemliggende Koncentrationer forbleve Opløsningerne ganske klare med Undtagelse af Opløsningen i $\frac{1}{50}$ n, der opaliserede. I Svovlsyre paa over $\frac{1}{10}$ n (= 0,49 %) maa Stoffet betegnes som uopløseligt, medens Maximum for Opløselighed ligger omkring $\frac{1}{100}$ n (= 0,049 %). Overfor Saltsyre er Forholdet i Hovedsagen det samme. Kun er maaske Opløseligheden gennemgaaende noget større.

De her nævnte Opløsninger taale Kogning, uden at Æggehvidestoffet koagulerer. En Opløsning i 0,4 procentholdig Mælkesyre — den, jeg oftest har benyttet — er meget holdbar, navnlig naar den henstaar ved lav Temperatur (4—5°). Hvis noget af Vandet fordamper, kan der dog efterhaanden udskilles en gennemsigtig gelatinøs Masse.

Glutinets optiske Drejningsevne er undersøgt af Kjeldahl¹, der fandt den

i 55 procentholdig Alkohol	for $\alpha_D = \div$	92°
i Iseddike	- - = $\div$	81°
i 0,1—5 procentholdig Eddikesyre	- - = $\div$	111°
i Fenol ved 40°	- - = $\div$	130°

Kjeldahl angiver, at det af ham fundne Tal for Drejningsevnen — i hvert Fald i vinøs Opløsning — er en saa konstant Faktor, at han har fundet det samme i Præparater af Hvede fra de forskellige Himmelstrøg (Donau-Hvede, kalifornisk og dansk Hvede) og fra fire forskellige Aargange.

Den samme Konstans fandt han for Kvælstofprocenten, der aldrig svingede ret langt fra 17,25. I to af mig undersøgte Præparater fandt jeg henholdsvis 17,18 og 17,22 % Kvælstof, saa de synes jo at stemme ret godt med Kjeldahls Tal.

Af visse Fældningsmidler som f. Ex. Garvesyre med Tilsætning af en Smule af en Saltopløsning (Natriumacetat eller Natriumchlorid) fældes det fuldstændigt (se Tabellen pag. 27), af en mættet Zinksulfatopløsning udsaltes c. 98 % (97,9 %), og af Stannochlorid under Tilsætning af Calciumchlorid fældedes i to Præparater henholdsvis 94,9 og 95,6 % af den samlede Kvælstofmængde. Og disse Fældningsforhold forandres ikke under Paavirkning af Mælkesyre. Hr. Laboratorieførstander Schjerning (Ny Carlsberg), der fik en lille Prøve af et af mine Præparater og undersøgte dets Forhold til forskellige af ham ofte benyttede Fældningsmidler,

¹ l. c. p. XIV.

har derom velvilligst meddelt mig følgende Tal, der udtrykke, hvor stor en Del af det samlede Kvælstof der udfældedes i 2 Parallelbestemmelser.

	I	II
Af Stannochlorid.....	94,7 %	og 92,7 %
- Mercuridchlorid	96,1 -	- 94,8 -
- Ferridacetat + sec. Natriumfosfat.	55,3 -	- " -
- " + prim. Calciumfosfat	" -	- 64,6 -
- Uranacetat	94,7 -	- 94,8 -
- Magniumsulfat	96,1 -	- 96,8 -
Tilladelig Fejl	1,4 -	- 1,1 -

At intet af de her anvendte Fældningsmidler saaledes som Garvesyren giver en fuldstændig Fældning, kunde maaske tyde paa, at der foreligger en Blanding af to eller flere Stoffer, i Mod-sætning til, hvad Kjeldahl antog, men jeg finder dog ingen Anledning til her at komme ind paa en Drøftelse af dette Spørgsmaal, saa meget mere som jeg i Valget af dette Stof ikke er gaaet ud fra, at det just skulde være aldeles rent — o: et kemisk Individ — men udelukkende har været ledet af Hensynet til, om det 1) lod sig paavirke af Maltudtrækket, og 2) om det ved skarpe Udfældninger egnede sig til at forfølge Proteolysen kvantitativt, og i begge disse Henseender har det virket fuldt ud tilfredsstillende¹.

Endnu skal jeg kun tilføje², at det omtalte Stof ved Kogning med 20 procentholdig Saltsyre + Tin konstant har givet mellem 29,4 og 29,6 % Ammoniak, og samme Mængde, hvad enten Dekompositionen udstræktes 4 eller 8 Døgn.

Som før nævnt, har Kjeldahl i sin Meddelelse ved Naturforsker-mødet i Kjøbenhavn 1892 kaldt dette Stof »Glutin«, og denne Benævnelse benyttede han ogsaa til daglig i Laboratoriet; men han har aldrig, saa vidt mig bekjendt, givet nogen Begrundelse af, hvorfor han havde valgt dette Navn. Muligvis har det kun været for i Korthed at adskille det fra det gamle Ritthausenske Begreb »Gluten«, medens det paa den anden Side efter hans Mening dog ikke kunde identificeres med noget af de 3 i Alkohol opløselige Æggehvide-stoffer (Fibrin, Glia-

¹ Det kunde jo forøvrigt være en ganske interessant selvstændig Opgave nærmere at bestemme dets Renhed og dets Forhold ved Sønderdeling med Syrer, Alkalier osv. og navnlig bestemme dets Plads mellem andre nøjere undersøgte Æggehvide-stoffer.

² Efter Oplysninger, der velvilligst ere overladte mig af min Kollega, Hr. Assistent C. Pedersen.

din, Mucedin), som man¹ senere mener at have fundet i Hvede; Kjeldahl mente tværtimod, at der kun findes eet i Alkohol opløseligt Æggehvidestof, da hans Præparater altid havde givet den førnævnte Konstans med Hensyn til Kvælstofindhold og optisk Drejningsevne. Men Spørgsmaalet er nu, om man af de Fakta, der foreligge om dette Stof, er berettiget til at benytte en Betegnelse, som de dyriske Limstoffer en Gang har faaet Borgerret paa i den videnskabelige Terminologi. Jeg tror, at man trods visse Ligheder med disse, ikke bør overføre Benævnelsen »Glutin« paa Planteæggehvidestoffer, før man ved en omhyggelig Gjennemarbejdelse og Undersøgelse af deres fysiske og kemiske Egenskaber nærmere har fastslaaet deres Karakter. Og skjønt jeg i min foreløbige Meddelelse i »Zeitschr. für physiol. Chemie« allerede har anvendt dette Navn for det her omtalte Præparat, vil jeg dog i det følgende foretrække at kalde det i al Almindelighed for »Protein« resp. Hvede-, Malt-, Bygprotein osv., idet jeg derved ikke foregriber en mere karakteriserende Betegnelse, som man muligvis senere maatte finde.

Lader man et Maltudtræk virke paa en saadan (svagt sur) Proteinopløsning ved en passende Temperatur, undergaar Proteinet en — tilsidst endogsaa næsten fuldstændig — Omdannelse, som f. Ex. kan give sig til Kjennde ved, at det unddrager sig Fældning med bestemte Fældningsmidler, at det bliver dialysabelt, giver andre Farvereaktioner, eller der optræder helt nye Stoffer, der kvalitativt kunne paavises i Forsøgsvæsken. Noget lignende sker i et Maltudtræk, hvortil der ikke er sat Protein, men i langt ringere Grad, idet de heri værende Æggehvidestoffer allerede under Spiringsprocessen have været udsatte for de proteolytiske Fermenters Paavirkning. Der er saaledes flere Metoder mulige til at forfølge Proteolysen, og jeg har i forskellige Øjemed ogsaa benyttet mig af forskellige. I Størstedelen af mine Forsøg har jeg dog, som allerede foran berørt, anvendt Forholdet til Fældningsmidler og da navnlig til to, som jeg her nærmere skal omtale: Garvesyre og Stannochlorid.

Om Garvesyren angives det i Litteraturen², at den fælder fuldstændigt egentlige Albuminstoffer (som Ægalbumin, Kasein og Laktalbumin), men kun ufuldstændig disses Omdannelsesprodukter (Albumoser og ægte Peptoner), af hvilke endogsaa Peptonerne gjenopløses fuldstændigt i Overskud af Fældningsmidlet (Sebe-

¹ Osborne & Voorhees, se Griessmayer: Die Proteide der Getreidearten 2. Udg. p. 95 ff. (1897.)

² Se f. Ex. Sebelien: Studier over Æggehvidestoffernes analytiske Bestemmelse med særligt Hensyn til Mælk. Videnskabernes Selskabs Oversigter 1888, 81—126 og Zeitschr. für physiol. Chemie XIII. 135—180 (1889).

lien). Der er dog ved denne Fældning flere Biomstændigheder, der maa tages Hensyn til. Saaledes, at askefrie Æggehvideoffer ikke fældes fuldstændigt, med mindre der tilsættes en ringe Mængde af et Salt (Natriumchlorid, Natriumacetat, Calciumchlorid, Magniumsulfat el. l.), at Fældningen maa foregaa i Kulden, at Fortyndingsgraden og Mængden af Fældningsmidlet have Indflydelse osv. Dernæst er det naturligvis heller ikke ligegyldigt, i hvilket Opløsningsmiddel Garvesyren benyttes. Sebelien har anvendt en vinøs Opløsning efter Almén² Opskrift (4 Gm. Tannin, 8 Ccm. Eddikesyre (25 %) og 190 Ccm. Spiritus paa c. 40—50 %); jeg har derimod altid benyttet en vandig Opløsning paa 5 %.

Da det naturligvis var af største Betydning at faa nøje Besked om, hvorledes Maltudtrækket og mit Proteïnpræparat forholdt sig overfor dette Fældningsmiddel, anstillede jeg herover en særlig Række Forsøg.

Der anvendtes hertil et Maltudtræk, tilberedt af 700 Gm. knust Grøn malt + 900 Ccm. dest. Vand (Udbytte 650 Ccm.), en 2 Procents Proteïnopløsning i 0,4 procentholdig vandig Mælkesyre og en Garvesyreopløsning paa 5 Procent. Jeg undersøgte først, hvilken Indflydelse Tilsætningen af nogle Draaber af en 5 procentholdig Natriumacetatopløsning havde paa Fældningens Fuldstændighed. Det viste sig her, at Fældningen i Maltudtrækket foregik fuldt saa godt uden som med Tilsætning af Natriumacetat, og at dette snarest hindrede Bundfaldet i at sætte sig saa hurtigt som ellers. I Maltudtrækket er der jo saa mange forskellige uorganiske Salte, der overflødiggjøre en yderligere Tilsætning heraf. Derimod var Tilsætningen af lidt Natriumacetat af største Betydning for at opnaa en fuldstændig Fældning og et klart Filtrat i en ren Proteïnopløsning, medens den ikke var nødvendig i en Blanding af Maltudtræk og Proteïnopløsning. Nedenstaaende Forsøg, som jeg anfører tabellarisk, skulde dernæst give mig Oplysning om: 1) Hvor megen Garvesyre der var nødvendig for at udfælde alt det, der kunde udfældes, af en bestemt Mængde Maltudtræk eller Proteïnopløsning, og 2) om Overskud af Garvesyre igjen opløste noget af Bundfaldet.

Fældningen foregik i 100 Ccm.s Maalekolber, og der fortyndedes senere op til Mærket med destilleret Vand. Filtreringen foregik først Dagen efter, og til Kvælstofbestemmelse efter Kjeldahls Metode anvendtes da 50 Ccm. af Filtratet (om de nærmere Manipulationer herved, se senere p. 31—32).

² Almén, Upsala läkareföreningens förhandlingar 1870.

Forsøg	Proteinopl. (2%)				Væskens Udseende efter Fældning	N-Bestemmelse i Filtratet			Filtratets Udseende
	Proteinopl. (2%)	Maltudr.	Natriumacetatopl.	Garvesyreopl.		Forlag af $\frac{1}{2}$ n. H_2SO_4	Titer paa tryk- posulit	N i Mgm.	
Nr.	Ccm.	Ccm.	Dr.	Ccm.		Ccm.	Ccm.		
294	10	0	0	10	{ Væskenslader sig ikke filtrere.	10	"	"	{ Meget uklart. } Rigeligt Bdf. ved Tilsetn. af mere Garvesyre.
295	—	—	6	1		—	12,21	14,80	
296	—	—	—	2	{ Ovenstaaende Væske stærkt uklar.	—	15,90	7,42	{ Svag Uklarhed. Filtrerer langsomt. Intet yderligere Bdf. m. Garvesyre.
297	—	—	—	3		—	19,31	0,60	
298	—	—	—	4	{ Ganske svagt opaliserende.	—	19,58	0,06	{ Klart.
299	—	—	3	5		—	19,58	0,06	
300	—	—	—	6	{ Klar.	—	19,60	0,02	{ Intet Bundfald ved Tilsetning af mere Garvesyre.
301	—	—	—	7		—	19,60	0,02	
302	—	—	—	8	{ Klar, gul.	—	19,56	0,10	{ }
303	—	—	—	9		—	19,62	÷ 0,02	
304	—	—	—	10	{ Klar, gul.	—	19,60	0,02	{ }
305	—	—	—	20		—	19,58	0,06	
306	—	—	—	30	{ Ovenstaaende Væske endnu mere uklar end i 295-98.	—	19,58	0,06	{ Uklart. } Giver stærkt Bundfald med Garvesyre.
307	10	10	0	1		—	8,40	22,42	
308	—	—	—	2	{ Fuldstændig klar.	—	12,37	14,48	{ Svagt uklart. }
309	—	—	—	3		—	13,58	12,06	
310	—	—	—	4	{ Alle ens.	—	14,44	10,34	{ Klart. } Stærk Uklarhed med Garvesyre
311	—	—	—	5		—	14,56	10,10	
312	—	—	—	6	{ Opaliserende, uigjennemsig- tig.	—	14,60	10,02	{ Opalescens, dog af- tagende, med Garve- syre.
313	—	—	—	7		—	14,60	10,02	
314	—	—	—	8	{ Henst. i 5 Dage. Filtrering.	—	14,60	10,02	{ Ingen Uklarh. m. Garvesyre.
315	—	—	—	9		—	14,58	10,06	
316	—	—	—	10	{ }	—	14,65	9,92	{ }
317	—	—	—	20		—	14,68	9,86	
318	—	—	—	30	{ }	—	14,70	9,82	{ }
							(39,41)		
319	—	50	—	30	{ }	20	15,36	48,10	{ }
320	0	10	—	10		10	14,62	9,98	
321	10	0	3	30	{ }	10	19,58	0,06	{ }
322	12 Ccm. conc. Svovls.				{ Kontrol- forsøg }	10	19,60	{ 19,61 Ccm. $\frac{1}{14}$ n. Natriumhypo- sulfitoløsning.	{ }
323	—	—	—	—		—	19,62		

Naar Kvælstofindholdet i Filtraterne i de Forsøg, hvor der har været anvendt 10 Ccm. Maltudtræk, ikke synker stort under c. 10 Mgm. kommer det af, at der i Maltudtrækket findes kvælstofholdige Stoffer (Hexonbaser, Amider, Ammoniak o. l.), der formodentlig ere Produkter af Enzymernes Virkning i det spirende Frø, og som unddrage sig Garvesyrefældningen. I Reglen udgjøre de c. Halvdelen af Totalkvælstoffet. I det her anvendte Maltudtræk er der ikke gjort Totalkvælstofbestemmelse, men til Sammenligning skal anføres en Række Tal fra andre Forsøgsrækker. I 10 Ccm. af forskellige Maltudtræk fandtes:

Total N	N i Filtratet fra Garvesyrefældningen	
	absolut	i Procent af Total-N.
18,35 Mgm.	8,57 Mgm.	46,7 %
18,37 -	8,61 -	46,3 -
16,35 -	7,47 -	45,1 -
17,70 -	8,80 -	49,7 -
17,21 -	7,65 -	44,5 -
19,33 -	9,73 -	45,2 -
18,88 -	9,98 -	52,9 -
20,04 -	10,00 -	49,9 -
18,84 -	8,68 -	46,1 -
19,33 -	10,15 -	52,5 -
18,20 -	8,20 -	45,1 -
18,46 -	9,50 -	51,6 -
21,04 -	10,00 -	48,0 -

Resultaterne af disse Forsøg blive da: 1) At der skal 3—4 Ccm. af en 5 procentholdig Garvesyreopløsning + nogle Draaber af en 5 procentholdig Natriumacetatopløsning til for at fælde fuldstændig 10 Ccm. af en 2 procentholdig Proteïnopløsning. 2) At en Blanding af 10 Ccm. af denne og 10 Ccm. frisk tilberedt Maltudtræk (tilberedt af 3 Dele Malt + 4 Dele Vand) til fuldstændig Fældning kræver 4—5 Ccm. 5 Procents Garvesyreopløsning. 3) At Uklarhed eller Opalescens i den over Bundfaldet staaende Væske tyde paa ufuldstændig Fældning, medens et klart Filtrat dog ikke altid er et sikkert Kriterium paa, at Fældningen har været fuldstændig (Forss. 309—10) og 4) At Overskud af Garvesyre indtil 30 Ccm. ikke opløser noget af det en Gang fældede Bundfald, selv efter 5 Dages Henstand. — Der anvendtes da altid senere i Grundforsøgene til Fældning af 10 Ccm. Proteïnopløsning + 10 Ccm. Maltudtræk 10 Ccm. Garvesyre.

Alle de her omtalte Fældninger ere foretagne ved almindelig

Stuetemperatur. Men naar Forsøg have været anstillede ved højere Temperaturer (f. Ex. 47° — 50°), paatrænger sig det Spørgsmaal, om man simpelthen kan afbryde disse Forsøg ved at tilsætte Fældningsmidlet, eller om en forudgaaende Afkøling er nødvendig, hvorfor følgende Forsøg anstilledes.

Der anvendtes 10 Ccm. af henholdsvis Proteinopløsningen (2 %), af Maltudtræk og af Garvesyreopløsningen (5 %). Før de blandedes, blev hver Del for sig opvarmet eller nedsvalet til den Temperatur, hvorved Fældningen foregik. Efter denne bleve Prøverne staaende endnu 10 Minutter ved den paagjældende Temperatur, før der fortyndedes med Vand (af alm. Temp.). Der gjordes Dobbeltbestemmelser ved alle Temperaturerne.

Fors.	Temp.	Titer	Middel	N. i Filtratet	An m.
Kontrol	(10 Ccm. conc. H ₂ SO ₄)	{19,60} {19,62}	19,61		
324	} 2°	{14,28}	14,36	10,50 Mgm.	{ Ved 2° blev Garvesyren mælket, men opløstes igjen fuldstændig klart, naar Glasset holdtes lidt mellem Hænderne.
325		{14,44}			
326	} 9°	{14,30}	14,29	10,64 —	
327		{14,28}			
328	} 18°	{14,26}	14,25	10,72 —	
329		{14,23}			
330	} 25°	{14,30}	14,28	10,66 —	
331		{14,26}			
332	} 47°	{14,04}	14,02	11,38 —	
333		{14,00}			
334	} 100°	{10,63}	11,79	15,64 —	{ Den over Bundfaldet staaende Væske var en mælkemulsion.
335		{12,95}			

Disse Forsøg lære: 1) at Fældningen foregaar ens ved Temperaturer mellem 2° og 25° , 2) at den er ufuldstændig ved 47° og 100° , og at 3), naar Fældningen foretages ved en højere Temperatur, forbliver den ufuldstændig, selv om der senere afkøles til en lavere Temperatur — et Resultat, som ogsaa Sebelien¹ er kommen til.

Det er saaledes af største Vigtighed ikke at fælde med Garvesyre ved for høj Temperatur, hvorfor jeg i alle følgende

¹ l. c. p. 90.

Forsøg altid har nedsvalet Kolberne under Vandhanen, før Garvesyren blev sat til. —

En helt anden Fase i Proteolysen afdækkes ved det andet af mig hyppigt benyttede Fældningsmiddel, Stannochloridet. Først paa et forholdsvis sent Stadium i min Undersøgelsesrække blev jeg opmærksom paa dette Stofs Anvendelighed i mit Øjemed, og jeg søgte da ved Hjælp af det at finde ogsaa denne anden Fases Afhængighed af forskellige Faktorer af mere almindelig Interesse.

Det var under Bestræbelsen for ved Hjælp af forskellige Fældningsmidler at finde nogle kvalitative Oplysninger om Proteolysen, at jeg ogsaa stødte paa Stannochloridet, idet jeg gennemgik flere af de af Schjerning¹ anbefalede Stoffer til Fældning af Proteiner. Naar jeg her lod enten Forsøgstiden eller Temperaturen variere, fik jeg forskjelligt beliggende Fældningskurver, af hvilke Stannochloridkurven frembød særlig Interesse, som det vil fremgaa af de senere meddelte Resultater.

En Stannochloridopløsning blev tilberedt — efter Schjernings Angivelse² — af 50 Gm. raspet Tin, der i en tareret Kolbe digereredes med en rigelig Mængde kogende koncentreret Saltsyre, indtil alt Tin var opløst. Opløsningen blev da inddampet, indtil Kolbens Indhold vejede c. 130 Gm. Den saltsyreholdige Stannochloridopløsning blev saa fortyndet med destilleret Vand til 1 Liter og filtreret. For at forebygge en Iltning fordeltes Opløsningen paa flere smaa Flasker, der fyldtes lige op til den tætsluttende Glasprop. — Heller ikke dette Fældningsmiddel fælder askefrie eller -fattige Æggehvide-stoffer. Schjerning anbefaler derfor først at tilsætte 5—10 Ccm. af en 10 procentholdig Calciumchloridopløsning, hvilket jeg ogsaa har gjort ved alle mine Fældninger.

Som før omtalt fælder Stannochlorid af en upaavirket Hvede-proteinopløsning c. 95 %. Af Maltudtrækkets Kvælstof udfælder det en betydelig mindre Del end Garvesyren. Medens der af denne udfældes c. Halvdelen (se Tabellen S. 27), udfælder Stannochlorid kun godt 30 % (i to Tilfælde bestemt nøjagtigt til 32 og 33,5 %). Men naar man fælder en Blanding af Proteinopløsning og Maltudtræk, fældes der ikke fuldt saa meget som Summen af to Fældninger, der foretages hver for sig, hvad Grun-

¹ Se Schjerning: Fresenius' Zeitschr. für anal. Chemie XXXIII, 263 (1894), XXXIV, 135 (1895), XXXV, 285 (1896), XXXVI, 643 (1897), XXXVII, 73 (1898), XXXVII, 413 (1898), XXXIX, 545 (1900).

² l. c. XXXVII, 414 (1898).

den hertil nu end kan være. Hvor store Afvigelser det her drejer sig om, vil fremgaa af nedenstaaende Tabel.

	Protein- opløsning (2 %)	Malt- udtr.	Total N.	N. fældet af Sn Cl ₂		
				absolut	i % af Total N.	
	Ccm.	Ccm.	Mgm.	Mgm.	%	
Forss.-Nr.	10	"	33,68	31,96	94,9	
1613—1630	"	10	19,10	6,40	33,5	
	10	10	52,78	38,36	72,7	beregnet
	10	10	52,78	36,58	69,3	fundet
Forss.-Nr.	10	"	31,74	30,30	95,6	
1917—1930	"	10	18,54	5,93	32,0	
	10	10	50,28	36,23	72,1	beregnet
	10	10	50,28	34,75	69,1	fundet

Der anvendtes ved de her omtalte Fældninger 10 Ccm. Calciumchloridopløsning og 20 Ccm. Stannochloridopløsning, da jeg ved mindre end 15 Ccm. af det sidste ikke fik alt det med, som kunde udfældes. Fældningen foregik i 50 Ccm.s Kolber for at undgaa for store Fortyndinger. Kolberne henstode tillukkede med Korkprop (for at hindre Iltens Adgang) til næste Dag, da Indholdet filtreredes. For at faa et klart Filtrat maatte det først gennemløbne ofte hældes tilbage paa Filtret flere Gange. En senere indtrædende Uklarhed skyldtes Iltning af Stannochloridet. Kvælstofbestemmelsen gjordes i det halve (25 Ccm.) af Filtratet, efter at dette forsigtigt var inddampet under Tilsætning af en Smule conc. Svovlsyre i Varmekasse ved c. 100°. —

Et Par Momenter ved Kvælstofbestemmelsen efter Kjeldahls Metode turde det ogsaa have Interesse at oplyse om her. Bestemmelserne gjordes som nævnt i Filtraterne, hvoraf der med Pipette toges Halvdelen af Forsøgsvæskens oprindelige Rumfang (henholdsvis 50 og 25 Ccm., eftersom der brugtes 100 Ccm.s eller 50 Ccm.s Maalekolber). Før Inddampningen heraf tilsattes der c. 1 Ccm. conc. Svovlsyre, og ved de garvesyreholdige Prøver inddampedes der over aabent Blus, indtil der begyndte at vise sig Svovlsyredampe. Ved Filtraterne med Stannochlorid lod dette sig ikke gjøre, da det stødte og sprøjtede alt for stærkt i Kolberne, men disse hensattes da i en Varmekasse ved c. 100°, og efter at have staaet her Natten over, vare de i Reglen saa vidt inddampede, at Dekompositionen med Svovlsyre kunde foregaa uden Stød, Sprøjt

eller Skumdannelse. Der anvendtes i Reglen til Dekompositionen 10 Ccm. conc. Svovlsyre foruden en Spatel Kobberilte. Erfaringen lærte mig imidlertid snart, at jeg, for at faa en fuldstændig Sønderdeling maatte udstrække Kogningen med Svovlsyre + Kobberilte temmelig længe, 4—5—6 Timer, endog ret længe efter at Væsken var bleven klar, for at alt Kvælstof ved den derpaa følgende Iltning med Kaliumpermanganat kunde blive omdannet til Ammoniak. Destillation og Titring (af $\frac{1}{7}$ normal Svovlsyre paa Natriumhyposulfit af en saadan Styrke, at 1 Ccm. svarede til 1 Mgm. Kvælstof) udførtes ganske paa den af Kjeldahl¹ angivne Maade.

Grundforsøgene. — For at undersøge en enkelt Faktors Indflydelse paa Proteolysen maa jo alle andre Faktorer end netop denne være konstante. Jeg har derfor, efter en Del orienterende Forsøg, valgt en Grundtype for min Forsøgsanstilling, som jeg tidligere lejlighedsvis har berørt, men nu skal definere nærmere. Ved et saadant Valg gjælder det om at finde de saa vidt mulig gunstigste Betingelser for Enzymvirkningen, paa samme Tid som man let og praktisk skaffer sig et Maal for denne og kan udføre saa mange Forsøg som muligt i den Tid, indenfor hvilken en variabel Størrelse, som f. Ex. selve Fermentevnen i Maltudtrækket, holder sig nogenlunde konstant. Med Undtagelse af den ene Faktor, som jeg med Hensigt har ladet variere eller har ombyttet med en helt anden, har Forsøgsanstillingen da været følgende:

Der anvendtes lige Rumfang (10 Ccm.) af et Maltudtræk med c. 18—20 Mgm. Kvælstof, friskt tilberedt af 3 Dele knust Grøn-malt + 4 Dele Vand, og af en Hvedeproteinopløsning paa 2% (med c. 30 Mgm. Kvælstof) i 0,4 procentholdig Mælkesyre. Herved blev Koncentrationen af Hvedeprotein i Blandingen 1%, som tilligemed selve Maltudtrækkets Æggehvide-stoffer i de 20 Ccm. Forsøgsvæske gav et Kvælstofindhold paa ialt c. 50 Mgm. Syregraden blev 0,2% Mælkesyre foruden de sure Fosfater, der findes i Maltudtrækket. Forsøgsvæsken anbragtes i 100 eller 50 Ccm.s Maalekolber, der stilledes i Vandbad (smaa Mæskekar) ved henholdsvis 47°—48° eller 50°—51°, eftersom der senere anvendtes Garvesyre eller Stannochlorid til Fældningen. Anvendtes begge Fældningsmidler, var Temperaturen i Reglen 50°. Forsøgstiden var 2, i flere Forsøgsrækker dog 3, Timer. Forsøgene afbrødes ved Tilsætning af Fældningsmidlerne; naar det var Garvesyre dog først efter Afkøling under Vandhanen. Der anvendtes 10 Ccm. 5 procentholdig Garvesyreopløsning (+ en Smule Natriumacetat) eller 20 Ccm. Stannochlorid-

¹ Se Kjeldahl: Meddelelser fra Carlsb. Labor. II, 323 (1888).

opløsning (efter Tilsætning af 10 Ccm. 10 procentholdig Calcium-chloridopløsning). Der fortyndedes saa senere op til Mærket med destilleret Vand, og Kolberne henstode, hvis der var fældet med Stannochlorid, forsynede med Prop, til Dagen efter eller længere, hvorefter der filtreredes, inddampedes, dekomponeredes, destilleredes og titreredes paa den ovenfor angivne Maade. — Selvfølgelig gjordes der altid Kontrolbestemmelser i Forsøgsvæsken ved umiddelbare Fældninger, før de proteolytiske Enzymer havde faaet Lejlighed til at virke (hvad jeg, med Kjeldahl, har kaldet for »passive« Prøver i Modsætning til de »aktive« Forsøg). Der gjordes næsten altid Dobbeltforsøg og Parallelbestemmelser, hvoraf der toges Middeltal, naar ikke den ene af særlige Grunde (Uheld under Manipulationerne) maatte kasseres.

Hvor Forsøgsanstillingen i Hovedtrækkene har været en helt anden end den her nævnte, f. Ex. ved Diffusionsforsøgene eller Undersøgelserne over bestemte Egenskaber hos Enzymerne, vil dette blive yderligere beskrevet paa det paagældende Sted.

III.

ALMINDELIGE LOVE FOR PROTEOLYSEN.

Efterat en Række orienterende Forsøg havde overbevist mig om, at et vandigt Udtræk af Grønsmalt virkelig havde proteolytiske Egenskaber og var i Stand til at omdanne ogsaa fremmede Æggehvide-stoffer, in casu det førømtalte Hvedeprotein, saaledes at dette under passende Forsøgsbetingelser efter en vis Tids Indvirkning helt eller delvis unddrog sig Fældning med visse Stoffer, gik jeg over til at undersøge, hvorledes Variationer i Forsøgsanstillingen influerede paa denne Omdannelse. For at faa sammenlignelige Resultater var det nødvendigt at arbejde saaledes, at saa vidt muligt kun den enkelte Faktor, hvis Indflydelse skulde maales, varierede i samme Forsøgsrække.

De Faktorer, der saaledes undersøgte, vare dels dem, der som Temperaturen, Enzymmængden, Tiden o. l. i Almindelighed have Indflydelse paa Enzymvirkninger, dels saadanne, om hvilke man paa Forhaand ikke kunde vide, om de influerede i den ene eller den anden Retning, som Tilstedeværelsen af fremmede Stoffer i det omgivende Medium. Resultaterne søgte udtrykt kvantitativt ved Tal, der angive, hvor stor en Mængde Kvælstof der under Forsøgene har unddraget sig Fældning med de paagældende Fældningsmidler, og, hvor det var muligt, tillige ved Kurvesystemer med

den varierende Faktor afsat som Abcisser, det omdannede Kvælstof (i Milligram) som Ordinator.

Idet jeg hertil som Forsøgsobjekter altid har anvendt Maltudtræk, der vare tilberedte paa samme Maade, og et bestemt Æggehvidestof i en bestemt Opløsning og Koncentration (se pag. 32), kunne de Love, jeg har fundet for Proteolysens Forløb under ellers vexlende ydre Forhold, i og for sig kun siges at gjælde for dette bestemte Maltudtræk og dette enkelte Æggehvidestof. Jeg paastaar da heller intet andet, og indrømmer, at en anden Forsøgsanstilling muligvis vil give andre Resultater. Dog mener jeg, der er en vis Sandsynlighed for, at Proteolysen ogsaa under andre Forhold, naar den foregaar udenfor den levende Celle, i Hovedsagen vil følge de fundne Love, og at disse ville give Finperpeg om eller Bidrag til Forstaaelsen af, hvorledes den foregaar inde i Cellen, hvor den jo reguleres ved det indviklede Sammenspil med saa mange andre Livsfunktioner, at det her vil være overmaade vanskeligt, om ikke helt umuligt, at skematisere dens Afhængighed af en enkelt »ydre« Faktor.

Først efterhaanden, som mit Arbejde skred frem, og navnlig ved den sidste samlende Bearbejdelse af mit Forsøgsmateriale blev det klart for mig, hvor sammensat en Proces den her behandlede proteolytiske Omdannelse af Hvedeproteinet i Virkeligheden er. Da den ikke er ledsaget af nogen kjendelig Luftudvikling eller Dannelsen af uopløselige eller lugtende Stoffer, giver den sig ikke umiddelbart til Kjende for vore Sanser som f. Ex. flere af de Gjæringsprocesser, der fremkaldes af Bakterier og Gjærsvampe (Forraadnelse eller den alkoholiske Gjæring). Og dog staar den hverken med Hensyn til Intensitet eller gennemgribende og dybtgaaende Spaltning af komplicerede Molekuler tilbage for disse Gjæringer, idet Æggehvidestoffet meget hurtigt omdannes saa godt som fuldstændigt til Albumoser (og Peptoner) for derefter at nedbrydes videre til krystallinske, ikke-proteinagtige Forbindelser, ja delvis lige ned det uorganiske Ammoniakmolekule¹.

¹ Da man ikke længere kan opretholde nogen rationel Adskillelse mellem de Gjæringer, der kun synes at komme i Stand ved Mikroorganismers direkte Indvirkning paa Gjæringsmaterialet, og dem, der ogsaa kunne foregaa udenfor den levende Celle ved Hjælp af Enzymer. kan man med lige saa stor Ret kalde denne Proteolyse for en Gjæring som Sukkermolekulets Spaltning til Alkohol og Kulsyre ved Hjælp af Gjærsvampe eller Zymase. Muligvis ere alle Gjæringsprocesser Enzymvirkninger, der ikke just behøve at udgaa fra Mikrober. Se forøvrigt: Johs. Schmidt og Fr. Weis: Bakterierne p. 184—86, Kbhvn. 1899—1901.

Det fremgik tillige af mine Forsøg, at de forskjellige Faser i denne Nedbrydning ikke i lige Grad ere afhængige af ydre Faktorer, men tildels følge hver sine Love, og da det, som jeg mener, er lykkedes mig nogenlunde skarpt at adskille i det mindste to af disse Faser, dem, der afdækkes henholdsvis ved Stannochlorid- og ved Garvesyrefældningen, og tilnærmelsesvis at faa den ene af dem til at foregaa uafhængigt af den anden, mener jeg herved og ved andre Indicier at have paavist i det mindste to forskellige Enzymer som Aarsager til den her omhandlede Proteolyse i sin Helhed.

Da dette Synspunkt har været det ledende for mig i den følgende Fremstilling af de enkelte Resultater, foregriber jeg derfor allerede her, hvad der først vil fremgaa af disse, og forudskikker disse Bemærkninger, dels for at orientere Læseren, dels for at forklare de Udtryk og Benævnelser, som jeg for Kortheds Skyld af og til har brugt, før jeg egentlig har begrundet dem.

Af de to Enzymer, som jeg saaledes antager ere tilstede i det spirende Byg og et af dette fremstillet vandigt Udtræk, benytter jeg for det ene, det, der besørger de første Faser i Proteolysen (Nedbrydningen til Albumoser og Peptoner), den gamle Benævnelse Peptase, og kalder det andet, som fører Nedbrydningen ud over Peptonstadiet, for Tryptase, efter disse Enzymers Lighed med de tilsvarende dyriske Enzymer, Pepsin og Trypsin¹. I samme Betydning taler jeg da ogsaa om den peptiske og den tryptiske Fase eller Virksomhed, der igjen vil falde sammen med de Tal og Kurver, der ere fundne ved henholdsvis Stannochlorid- og Garvesyrefældningen.

1. Afhængighed af Temperaturen.

Karakteristisk for Enzymprocesserne i Modsætning til andre lignende, f. Eks. Hydrolysen af Kulhydrater under Indvirkning af fortyndede Syrer, er bl. a. deres Forhold til Temperaturen. Visse Enzymer kunne fremkalde den samme Hydrolyse af et bestemt Stof

¹ Forøvrigt mener jeg, at man burde anvende Betegnelserne »Peptase« og »Tryptase« som Kollektivnavne for alle proteolytiske Enzymer af henholdsvis peptisk og tryptisk Natur, idet man da godt kunde beholde Navnene »Pepsin« og »Trypsin« som specifikke for de animalske Enzymer, der nu en Gang have faaet Borgerret paa dem. — Naar jeg i min Oversigt over Gjæringer i Schmidt og Weis: »Bakterierne«, p. 195. Kbh. 1899—1901, vel indførte Benævnelsen »Peptase«, men endnu ikke »Tryptase«, var det, fordi jeg under den almindelige Nomenklaturforvirring, der i Øjeblikket hersker i Enzymologien, nødigt vilde forøge denne ved Indførelse af helt nye Navne i et Arbejde af lærebogsagtig Karakter.

som Syrerne, men medens disse virke des kraftigere, jo højere Temperaturen er, saa høre Enzymvirkningerne fuldstændig op, naar der er naaet et Temperatur-Maximum, der i Reglen ligger omkring 70° og aldrig ret meget over, medens de udøver den stærkeste Virkning ved en endnu lavere Temperatur, Optimum, i Reglen beliggende mellem 40° og 60° . Og naar et Enzym i opløst Tilstand en Gang har været opvarmet til Maximum en vis, meget kort, Tid, kan det ikke ved Nedsættelse af Temperaturen bringes til at virke paa ny; det er da en Gang for alle bleven destrueret eller »dræbt«. Der er ogsaa en Minimumstemperatur, der i Reglen ligger nogle faa Grader over 0° , under hvilken Enzymet heller ikke virker; men her destrueres det ikke, selv om det udsættes for Udfrysning ved meget lave Temperaturer; det bliver blot uvirksomt, indtil det atter opvarmes til over Minimum. Enzymvirkningen eller Fermentevnen er saaledes (langsomt) stigende med Temperaturen fra Minimum til Optimum og herfra (temmelig brat) aftagende indtil Maximum, medens Syrevirkningen stiger nogenlunde proportionalt med Temperaturen til Opløsningens Kogepunkt. Man vil derfor i saa Tilfælde af Temperaturkurvens Udseende kunne slutte, om man har med en Enzymvirkning (Gjæring) eller med en ved andre Midler fremkaldt Proces at gøre¹.

De egentlige Enzymprocesser vise i en Række Forhold Overensstemmelse med Cellefunktionerne, der altid forløbe efter lignende Kurver. Og da Enzymerne jo altid have deres Oprindelse fra levende Celler og synes at spille en overmaade vigtig Rolle i disses Vexelvirkning med Omverdenen, er der for saa vidt intet paafaldende i denne Overensstemmelse. Kun bør det noteres, at Kardinalpunkterne i Temperaturkurverne ligesom forskydes, naar Enzymet isoleres fra Cellen. I hvert Fald kommer Optimums- og Maximumspunkterne gjennemgaaende til at ligge højere i dette Tilfælde, idet Cellen som oftest dør, og dens forskellige Enzymer dermed destrueres allerede ved Temperaturer omkring 50° . Maaske skal dette forklares ved, at der inde i Cellen i Virkeligheden er højere Temperaturer, end vi

¹ De af Bredig, Müller von Berneck, Ikeda, Reinders m. fl. undersøgte katalytiske Virkninger af kolloidale Metaller (Soler), der ellers i flere Tilfælde synes at følge lignende Love som Enzymerne (ved Indvirkning af Alkali, Gifte osv.) — hvad der dog efter min Mening aldeles ikke berettiger til at sammenligne dem med disse — afvige ogsaa i deres Forhold til Temperaturen fra Enzymvirkninger. Se Georg Bredig: *Anorganische Fermente*, p. 65, Leipzig 1901, og C. Ernst: *Katalyse des Knallgases durch kolloidales Platin*, *Zeitschr. f. physikal. Chemie* XXXVII, 477 (1901).

sædvanligt antage, eller at den til Processens Udførelse nødvendige Energi skaffes til Veje i andre Former end netop Varme. Uden ellers at komme nærmere ind paa dette Spørgsmaal, skal jeg kun gjøre opmærksom paa, at den her omhandlede Proteolyse jo netop har sit Optimum ved en Temperatur (omkring 50°), som vilde være dræbende for den spirende Bygkimplante, og at man altsaa ikke direkte kan overføre de her vundne Resultater paa Omsætningen indenfor de Celler, hvoraf Enzymerne fremstilles.

Alligevel har det sin store Betydning nøje at kjende Temperatures Indflydelse paa Proteolysen i dens forskellige Faser, dels for at kunne karakterisere de paagjældende Enzymer, der forarsage den, og muligvis identificere dem med andre, dels, fordi det ved Undersøgelsen af de andre Faktors Indflydelse er vigtigt at vide, ved hvilken Temperatur man kan vente sig de stærkeste Udslag, idet man her altid helst maa arbejde ved Optimumstemperaturen. Bestemmelsen af Temperaturkurverne var da ogsaa en af de første Opgaver, jeg søgte at løse, først ved Hjælp af Garvesyrefældningen, senere ved Stannochloridfældningen, saa snart jeg havde lært dette Fældningsmiddels Betydning for mine Undersøgelser at kjende.

Kjeldahl havde i de foran (p. 6—7) anførte Forsøg fundet Optimum for den proteolytiske Virkning, der afdækkes ved Fældning med Cupridsulfat, beliggende mellem $50\frac{1}{2}^{\circ}$ og 55° , men ved mine første orienterende Forsøg med Garvesyrefældningen syntes det at ligge mellem 45° og 50° . Da jeg dog senere ved Fældning med Stannochlorid fik de største Virkninger nærmere ved de af Kjeldahl angivne Punkter, blev det (i Erkjendelsen af det anvendte Fældningsmiddels mulige Indflydelse paa de vundne Resultater) nødvendigt i særlige Forsøg at undersøge Virkningen ved alle hele Temperaturer mellem 45° og 55° med begge Fældningsmidler.

Den Gruppe af Forsøg, i hvilken der anvendtes Garvesyre som Fældningsmiddel, blev anstillede i Januar 1899. Der benyttedes her et Maltudtræk, fremstillet af 1 Del knust Grøn malt paa 2 Dele destilleret Vand, hvis Indhold af Total-Kvælstof dog ikke blev direkte bestemt; efter den p. 28 anførte Tabel kan den dog sikkert anslaaes til c. 13,00 Mgm. Kvælstof i 10 Ccm., da der heri fandtes 6,66 Mgm., som ikke fældedes af Garvesyre. Af dette Udtræk virkede 10 Ccm. paa 10 Ccm. af en 2 Procents Hvedeproteinopløsning i 0,4 procentholdig Mælkesyre i 2 Timer. Da det var af Betydning til alle Forsøgene at anvende det samme Udtræk, og jeg ikke raadete over et tilstrækkeligt Antal Thermostater til, at alle Forsøg kunde anstilles samtidig, maatte jeg dele dem i fire

Rækker, hvoraf de to første anstilledes paa samme Dag med c. 1 Times Mellemrum, den tredje Dagen efter og den fjerde, paa Grund af en mellemliggende Søndag, først Tredjedagen efter. I Mellemtiden stod da Maltudtrækket nedpakket i Is i et Isskab ved 0°, og for yderligere Konservering var der tilsat Thymol, hvis svækkende Indflydelse paa Fermentevnen jeg endnu ikke var klar over. Tallene for de to sidste Forsøgsrækker falde derfor forholdsvist lavere end for de to første, men alle Kurvene gaa dog i Hovedtrækkene i samme Retning. — Forsøgsvæsken var indesluttet i 100 Ccm.s Maalekolber, der i de 2 Timer henstode paa forskellige Steder:

Ved Temperaturer paa 0° i Isvand.

— — — 5° i Isskab.

— — — 10° i et Kølerum i Kælderen.

— — — 20° (Stuetemperatur) i Laboratoriet.

— — — 25° i en Thermostat.

— — — 30°—70° i Vandbade med Thermoregulatorer.

I. Række, 27/1 1899, Kl. 11,30—1,30.

For-søg	Tempe-ratur	Titer	Middeltal	N i Filtrat	Omdan-net N
Nr.		Ccm.	Ccm.	Mgm.	Mgm.
Kontrol	(10 c. conc.	19,54)			
—	H ₂ SO ₄)	19,54)	19,54		
131	(passiv)	16,18)	16,21	3,33	6,66
132	—	16,25)			
133	5°	16,25)	16,21	6,66	0,00
134	—	16,18)			
135	15°	16,00)	16,00	7,08	0,42
136	—	—)			
137	25°	15,50)	15,50	8,08	1,42
138	—	15,50)			
139	35°—37°	14,12)	14,31	10,46	3,80
140	—	14,50)			
141	45°	13,55)	13,54	12,00	5,34
142	—	13,51)			
143	50°	13,52)	13,52	12,04	5,38
144	—	13,52)			
145	55°	14,46)	14,44	10,20	3,54
146	—	14,42)			
147	60°	15,20)	15,19	8,70	2,04
148	—	15,18)			

II. Række, $^{27}/_1$ 1899, Kl. 2,40—4,40.

For-søg	Tempe-ratur	Titer	Middeltal	N i Filtrat	Omdan-net N
Nr.		Ccm.	Ccm.	Mgm.	Mgm.
149	(passiv)	16,25)	16,24	6,60	"
150	—	16,23)			
151	47°	13,48)	13,53	12,02	5,42
152	—	13,58)			
153	49°	13,71)	13,67	11,74	5,14
154	—	13,63)			
155	51°	13,77)	13,80	11,48	4,88
156	—	13,82)			
157	53°	13,85)	13,87	11,34	4,74
158	—	13,88)			

III. Række, $^{28}/_1$ Kl. 2,00—4,00.

For-søg	Tempe-ratur	Titer	Middeltal	N i Filtrat	Omdan-net N
Nr.		Ccm.	Ccm.	Mgm.	Mgm.
159	(passiv)	16,19)	16,21	6,66	"
160	—	16,22)			
161	46°	14,02)	13,96	11,16	4,50
162	—	13,92)			
163	48°	13,92)	13,92	11,24	4,58
164	—	13,92)			
165	52°	14,15)	14,14	10,80	4,14
166	—	14,13)			
167	54°	14,46)	14,58	9,92	3,26
168	—	14,70)			

IV. Række, $^{30}/_1$ Kl. 11,30—1,30.

For-søg	Tempe-ratur	Titer	Middeltal	N i Filtrat	Omdan-net N
Nr.		Ccm.	Ccm.	Mgm.	Mgm.
169	(passiv)	16,13)	16,14	6,80	"
170	—	16,15)			
171	50°	14,25)	14,18	10,72	3,92
172	—	14,10)			
173	65°	15,63)	15,44	8,20	1,40
174	—	15,25)			
175	70°	16,01)	16,10	6,88	0,08
176	—	16,18)			

Forsøgene afbrødes ved Tilsætning af 10 Ccm. 5 Procents Garvesyreopløsning, efter at Kolberne fra de højere Forsøgstemperaturer først vare afkølede under Vandhanen.

Til Bedømmelsen af, hvilken Grad af Nøjagtighed der kan tillægges mine Tal, meddeler jeg i hosføjede Tabeller over mine Resultater om Temperaturens Indflydelse alle Tallene fra mine Forsøgsjournaler, 3: foruden de fundne Kvælstofmængder tillige de nærmere Data ved Titreringerne, hvoraf Kvælstofmængderne ere udregnede¹. Da der til Bestemmelserne altid kun er benyttet den halve Mængde af Filtratet fra Garvesyre- og Stannochloridbundfaldet, er det for Kvælstofmængden fundne Tal multipliceret med 2, hvorved Titreringsfejlene blive fordoblede.

Naar disse Tal sammenstilles, og navnlig naar de udtrykkes grafisk i et Kurvesystem (se Tavle I, nederste Kurver), finder man Optimum beliggende ved 47°—48°, Minimum over 5° og Maximum ved c. 70°.

Den anden Gruppe af Forsøg, i hvilken der anvendtes Stannochlorid som Fældningsmiddel, blev anstillet i Slutningen af April 1901. Der benyttedes da et Maltudtræk, der oprindeligt var fremstillet af 1000 Gm. knust Grøn malt og 1333 Gm. Vand (3:4), som gav 810 Ccm. Filtrat. Men for at disse Forsøg kunde sammenlignes med de foregaaende, fortyndedes dette Udtræk saa meget, at det omtrent kom til at svare til 1 Del Malt paa 2 Dele Vand. Det indeholdt da i 10 Ccm. 12,52 Mgm. Total-Kvælstof, hvoraf 6,20 Mgm. unddrog sig Fældning med Garvesyre (Jvf. det p. 37 anvendte). Forøvrigt var Forsøgsanstillingen ganske som i den første Gruppe med Undtagelse af, at Forsøgstiden kun var 1 Time. Tidligere Forsøg havde belært mig om, at efter c. 2 Timers Forløb kunde saa godt som den hele Mængde Kvælstof i en 1 Procents Proteïnopløsning være saaledes omdannet, at den unddrog sig Fældningen med Stannochlorid, og da der selvfølgelig ikke kunde vindes brugelige Resultater, hvis Reaktionen indenfor den anvendte Forsøgstid førtes helt eller omtrent til Ende, hvorved ogsaa den stærke Ophobning af Gjæringsprodukterne kunde virke forstyrrende paa Processen, valgte jeg at sætte Forsøgstiden til 1 Time. Naar herved Forholdet mellem den af de fundne Tal konstruerede Kurve og Kurven for Garvesyrefældningen forrykkes noget i vertikal Retning, kompenseres dette paa den anden Side tildels derved, at der her ikke anvendtes Thymol, men et ganske friskt Maltudtræk med usvækket Fermentevne. Den korte Forsøgstid bragte den Fordel,

¹ Senere vil jeg da kun anføre de paa denne Maade fundne Tal for Kvælstofmængden.

I. Række Kl. 12,40 (12,51)-1,40 (1,51)				II. Række Kl. 2,40 (2,48)-3,40 (3,48)			III. Række Kl. 4,06 (4,10)-5,06 (5,10)			I. + II. + III. Række		
Temp.	For- søg	Titer	N i Filtr.	For- søg	Titer	N i Filtr.	For- søg	Titer	N i Filtr.	Temp.	N i Filtr.	Omd. N
	Nr.	Ccm.	Mgm.	Nr.	Ccm.	Mgm.	Nr.	Ccm.	Mgm.		Mgm.	Mgm.
40 Ccm. conc. H ₂ SO ₄ passiv	Kon- trol	19,60 19,60	19,60	"	"	"	"	"	"	"	"	"
—	1821	13,96	"	"	"	"	"	"	"	(passiv)	11,92	0,00
—	1822	13,32	13,64	"	"	"	"	"	"	"	"	"
4°	1825	—	"	"	"	"	"	"	"	4°	14,28	2,36
—	1826	12,46	12,46	"	"	"	"	"	"	"	"	"
20°	1827	12,28	12,19	"	"	"	"	"	"	20°	14,82	2,90
—	1828	12,10	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
35°	1829	9,10	9,15	"	"	"	"	"	"	35°	20,90	8,98
—	1830	9,20	20,90	"	"	"	"	"	"	"	"	"
40°	1831	7,70	7,65	"	"	"	"	"	"	40°	23,90	11,98
—	1832	7,60	23,90	"	"	"	"	"	"	"	"	"
42,5°	"	"	"	1843	6,86	6,90	"	"	"	42,5°	25,40	13,48
—	"	"	"	1844	6,94	25,40	"	"	"	"	"	"
45°	1833	6,32	6,16	"	"	"	"	"	"	45°	26,88	14,96
—	1834	6,00	26,88	"	"	"	"	"	"	"	"	"
46°	"	"	"	1845	5,92	5,96	"	"	"	46°	27,28	15,36
—	"	"	"	1846	6,00	27,28	"	"	"	"	"	"
47°	"	"	"	"	"	"	1857	5,70	5,54	47°	28,12	16,20
—	"	"	"	"	"	"	1858	5,38	28,12	"	"	"
48°	"	"	"	1847	5,12	5,04	"	"	"	48°	29,12	17,20
—	"	"	"	1848	4,96	29,12	"	"	"	"	"	"
49°	"	"	"	"	"	"	1859	4,70	4,70	49°	29,80	17,88
—	"	"	"	"	"	"	1860	4,70	29,80	"	"	"
50°	1835	—	4,60	"	"	"	"	"	"	50°	30,00	18,08
—	1836	4,60	30,00	"	"	"	"	"	"	"	"	"
51°	"	"	"	"	"	"	1861	4,48	4,53	51°	30,14	18,22
—	"	"	"	"	"	"	1862	4,58	30,14	"	"	"
52°	"	"	"	1849	4,84	4,71	"	"	"	52°	29,78	17,86
—	"	"	"	1850	4,58	29,78	"	"	"	"	"	"
53°	"	"	"	"	"	"	1863	5,02	5,00	53°	29,20	17,28
—	"	"	"	"	"	"	1864	4,98	29,20	"	"	"
54°	"	"	"	1851	5,32	5,27	"	"	"	54°	28,66	16,74
—	"	"	"	1852	5,22	28,66	"	"	"	"	"	"
55°	1837	5,65	5,64	"	"	"	"	"	"	55°	27,92	16,00
—	1838	5,62	27,92	"	"	"	"	"	"	"	"	"
57,5°	"	"	"	1853	7,80	7,76	"	"	"	57,5°	23,68	11,76
—	"	"	"	1854	7,72	23,68	"	"	"	"	"	"
60°	1839	8,70	8,69	"	"	"	"	"	"	60°	21,82	9,90
—	1840	8,68	21,82	"	"	"	"	"	"	"	"	"
65°	1841	11,22	11,34	"	"	"	"	"	"	65°	16,52	4,60
—	1842	11,46	16,52	"	"	"	"	"	"	"	"	"
70°	"	"	"	1855	13,44	13,28	"	"	"	70°	12,64	0,72
—	"	"	"	1856	13,12	12,64	"	"	"	"	"	"
75°	"	"	"	"	"	"	1865	—	13,30	75°	12,60	0,68
—	"	"	"	"	"	"	1866	13,30	12,60	"	"	"

Total-Kvælstof i 10 Ccm. Maltudtræk 12,52 Mgm.

— — Proteinopløsning 30,60 —

Total-Kvælstof i 20 Ccm. ialt 43,12 —

at alle Forsøgene kunde fuldføres paa samme Dag. De deltes i 3 Rækker, hver med $\frac{1}{2}$ à 1 Times Mellemrum, og fuldførtes saaledes alle i Løbet af $4\frac{1}{2}$ Time, i hvilken Tid Fermentevnen kun kan have forandret sig ubetydeligt. Proteïnopløsningen opvarmedes i Forvejen i Kolben til den paagældende Temperatur, idet den anbragtes paa Vandbadet nogen Tid, før Maltudtrækket sættes til. Dette havde derimod ved Forsøgets Begyndelse Stuetemperatur. Der bliver her en lille Fejlkilde, som ved de højere Temperaturer maaske kan spille en lille Rolle, ved under og omkring Optimum at nedsætte Virkningen, over Optimum at forøge den (deraf kan saaledes det lille positive Udslag ved 70° forklares). — Forsøgene afbrødes ved (uden forudgaaende Afkøling) at sætte 5 Ccm. 10 procentholdig Calciumchloridopløsning og 20 Ccm. frisk tilberedt Stannochloridopløsning til Forsøgsvæsken, og da der anvendtes 50 Ccm.s Maalekolber, behøvedes der kun en ganske ringe Fortynding med Vand for at fylde op til Mærket.

Resultaterne af Forsøgene vil ses af omstaaende Tabel, der ligesom den foregaaende giver alle Tallene fra min Forsøgsjournal. Tegner man nu en Kurve af de fundne Tal og stiller den sammen med Kurven for Garvesyrefældningen, med hvilken den vel ikke paa alle Punkter er fuldt ud kommensurabel, ville flere Forhold let falde i Øjnene (se Tavle I).

Først, at den Virksomhed, der afdækkes ved Garvesyre-fældningen, kvantitativt er langt mindre omfattende end den, som Stannochloridfældningen oplyser om. Dernæst har Garvesyrekurven ikke noget udpræget Optimalpunkt. Stigningen fra 35° til 47° — 48° er ikke særlig stærk, og der synes snarest at være en Optimalzone mellem 45° og 50° . Herfra er Faldet mod Maximum, 70° , ogsaa meget jævnt, men ved denne Temperatur er Virkningen fuldstændig ophørt. Det bør dog bemærkes, at Virkningen ved 60° er betydeligt lavere end ved 35° , medens Forholdet ved Stannochloridfældningen viser i modsat Retning (lidt højere ved 60° end ved 35°). Først over 5° kan der iagttages nogen Virkning, men ved 15° er den endnu kun ganske svag, knapt $\frac{1}{2}$ Mgm. omdannet Kvælstof.

Stannochloridkurven har derimod et udpræget Optimalpunkt ved 51° med stejl Stigning før og endnu stejlere Fald efter dette Punkt. Ved 35° og 60° er Virkningen omtrent den samme men dog kun c. Halvdelen af, hvad den er ved 51° . Ved 70° og 75° sker der intet; her er Enzymet destrueret. De smaa positive Udslag paa henholdsvis 0,72 og 0,68 Mgm. omdannet Kvælstof kunne, som tidligere nævnt, forklares ved, at Maltudtrækket, da det ved Forsøgets Begyndelse sættes til den varme Proteïnopløsning, havde

Stuetemperatur og derfor først efter nogle Minutters Forløb er naaet op til de 70° og 75° ; et Øjeblik har Blandingen da vel endog været paa Optimumstemperaturen, og Enzymet har faaet Lejlighed til at virke. Mærkeligt er Forholdet ved de lave Temperaturer, og navnlig, at der allerede ved 4° er saa stor en Virkning. Jeg vilde have troet, at her forelaa en grov Forsøgsfejl, hvis ikke flere andre Forsøgsrækker havde givet ganske tilsvarende Resultater¹. Men naar der i denne Forsøgsgruppe er saa ringe Forskjel paa Virkningerne ved 4° og ved 20° , saa har en Forsøgsfejl ganske vist nogen Skyld heri, og Tallet for 4° er noget for højt. Jeg havde nemlig ikke før Blandingen af Maltudtræk og Proteinopløsning nedsvalt disse hver for sig men blandet dem ved Stuetemperatur og derefter hensat Kolberne i Isskabet, og her, hvor største Delen af Forsøgskolbens Overflade kun var i Berøring med Luften, ikke nedsænket i en kold Væske, er Afkølingen ikke foregaaet saa hurtigt og er maaske først henimod Slutningen af den korte Forsøgstid naaet ned til 4° ².

¹ Jeg skal saaledes nævne 2 Forsøgsrækker, i hvilke der i 2 Timer omdannedes henholdsvis ved 4° 5,34 Mgm., ved 20° 13,06 Mgm. og ved 4° 6,18 Mgm., ved 20° 13,52 Mgm. Her ere Udslagene ved den længere Forsøgstid saa store og tillige saa indbyrdes overensstemmende, at de ikke ere til at tage fejl af.

² Naar Udslagene ved den længere Forsøgstid (3 Timer) ere saa meget større end i de kortvarige Forsøg, viser dette, at Processen fortsættes, efter at Afkølingen har fundet Sted. — Det maa dog her erindres, hvad jeg allerede p. 30 har gjort opmærksom paa, at naar man fælder et Maltudtræk og en Proteinopløsning hver for sig med Stannochlorid, fældes der tilsammen mere end i en Blanding af de to, selv om Fældningen sker umiddelbart efter Blandingen. Dette tyder maaske paa, at Peptasen virker meget hurtigt, ja, saa at sige momentant giver kjendelige Udslag, og af de ovenanførte Forsøg fremgaar altsaa, at den ogsaa virker ret kraftigt ved forholdsvis lave Temperaturer. Disse Forhold bekræftedes af senere Forsøgsrækker, fra hvilke jeg her skal anføre nogle Tal. I nogle Forsøg, der anstilledes ved Optimumstemperaturen, 51° , var der

efter 15 Minuter omdannet 12,86 Mgm. N.				
—	30	—	—	18,22
—	45	—	—	22,98
—	1 Time	—	—	25,10
—	2 Timer	—	—	28,34
—	3	—	—	28,74
—	4	—	—	28,70

I andre Forsøg, der anstilledes ved 20° var der efter $\frac{1}{2}$ Time omdannet 2,08 Mgm. N.

—	1	—	—	5,44
—	2	—	—	8,32
—	4	—	—	15,88

Hvilke Processer de paa Tavle I optegnede Kurver ere Udtryk for, vil jeg senere komme til at drøfte nærmere under Omtalen af de Resultater, jeg har naaet ved samtidig at bruge en Række andre Fældningsmidler som Mercuridchlorid, Zinksulfat, Uranacetat og Fosfor-Wolframsyre samt ved at gjøre Ammoniakbestemmelser ved Destillation med Magnesia. Her skal kun erindres om, at Stannochlorid maa antages blot at fælde egentlige, uomdannede Æggehvideoffer, medens Garvesyre tillige fælder Albumoser og Peptoner.

Det vilde naturligvis have sin store Interesse tillige at bestemme Temperaturkurverne for de andre ovennævnte Fældningsmidler. Noget saadant har jeg ogsaa forsøgt, idet jeg har anstillet flere Rækker Forsøg ved forskellige Temperaturer, ved 4° , 19° , 20° , 31° , 47° og 60° . Disse Forsøg bleve imidlertid anstillede, før jeg anede noget om, at jeg ogsaa havde med en saa hurtigt forløbende og intensiv Omdannelsesproces at gjøre, som den, Forsøgene med Stannochlorid senere gave mig Oplysning om¹, eller at der var forskellige Temperaturoptima for de forskellige Stadier i Processen. For at faa tydeligere Udslag havde jeg derfor altid udstrakt Forsøgstiden til 3 Timer, og ved at gaa ud fra, at 47° var det fælles Optimum, var jeg kommen betydeligt ned under det gunstigste Punkt for i alt Fald en af Funktionerne². Herved er aabenbart Forholdet mellem de forskellige Fældningskurver forskudt saaledes, at de, som Temperaturkurver betragtede, have mistet en stor Del af deres Værdi, hvorfor disse Forsøg have større Interesse i en anden Sammenhæng (se Afsnit IV, 4). —

Der staar nu kun tilbage at sammenligne mine Resultater med, hvad andre Forskere mene at have fundet om Tempera-

Her i den sidste Forsøgsrække ligger Tallet for $\frac{1}{2}$ Time muligvis noget for lavt paa Grund af en Forsøgsfejl, men da disse Tal ere vundne ved en Multiplikation med 4 (fordi der undtagelsesvis kun anvendtes 5 Ccm. Maltudtræk + 5 Ccm. Proteinopløsning), er Fejlen ogsaa bleven firdoblet. Alt i alt ses det dog, at man ved de højere Temperaturer maa regne med en næsten øjeblikkelig Virkning, og at Peptasen virker ret kraftigt i den paagjældende Retning allerede ved 4° . Det vilde være interessant at erfare, om den ogsaa virker ved 0° eller derunder, men herover har jeg hidtil ingen Forsøg anstillet. —

¹ Angivelserne i Litteraturen ere saa godt som alle Resultater af meget langvarige Forsøg (fra Dage til Maaneder), saavel for vegetabiliske som for animalske proteolytiske Enzymer.

² Jeg erindrer her om, at paa den paa Tavle I tegnede Stannochloridkurve er Udslaget ved 47° 2 Mgm. lavere end ved 51° , skjønt den gjælder for et Maltudtræk, der var betydeligt svagere end det, som anvendtes i disse Forsøg, og for en Forsøgstid paa kun 1 Time.

turens Indflydelse. Windisch & Schellhorn¹ have anstillet nogle »Selvfordøjelses« forsøg mest med Udtræk af fint malet lyst Køllemalt, men ogsaa af knust Grøn malt (i hvilken Kimbladene havde naaet en Længde af $\frac{2}{3}$ — $\frac{3}{4}$ af Kornlængden), der digereredes med forskellige Mængder Vand i $1\frac{1}{4}$ —3 Timer. Forsøgene bleve anstillede ved 5°—7°, 11°—15°, 22°—24°, 37°, 42°, 50° og 52° (dog aldrig ved mere end 5 forskellige Temperaturer i samme Forsøgsrække), og de varede i fra 20 til 24 Timer, idet der var tilsat Chloroform som Antiseptikum. Processen forfulgtes ved at bestemme: 1) Koagulabelt Albumin, ved Kogning i 2 Minuter, 2) Albumoser, ved Udsaltning med Zinksulfat i Filtratet fra Albuminerne, 3) »saakaldte Peptoner«² ved Fældning med Fosfor-Wolframsyre i Filtratet fra Zinksulfatfældningen og 4) saakaldet Amidkvælstof, ved at koge Filtratet fra Albuminerne i 1 Time med Saltsyre³ og derefter afdestillere Ammoniakken. At de to sidste Operationer maatte give højest svævende Resultater, er umiddelbart indlysende. — De af Forfatterne anførte Tabeller vise tydeligt nok en Aftagen saavel af Albuminstoffer som af Albumoser (mærk den lange Forsøgstid!) med Stigning af Temperaturen indtil en vis Grænse, hvilket de ogsaa slutte af deres Forsøg, skjønt deres Bestemmelser ikke ere synderlig nøjagtige og sikkert behæftede med store Forsøgsfejl, der undertiden fremkalde ejendommelige Variationer indenfor de Temperaturer, hvor man skulde vente en jævn Stigning. Men dette er da ogsaa alt, hvad de ere berettigede til at slutte; naar de tillige mene at have fundet »dass die Abbauprodukte, besonders wenn man das Enzym bei niedriger Temperatur wirken lässt, sehr weitgehend sind« og understrege dette som Hovedresultatet af deres Forsøg, saa vil enhver, der tager deres Afhandling for sig, strax se, at netop det Forsøg (Fors. 13), hvorpaa de bygge denne Slutning, opfordrer til den største Varsomhed og tyder paa, at der her er meget grove Fejl i Bestemmelserne for »Zunahme der Peptone«. Noget sandt er der vel i den anførte Sætning, som den lyder i al Almindelighed, men naar de mene, at det særlig er ved 12° og deromkring (ved 5° faar de dog det modsatte Udslag), at de »saakaldte Peptoner« nedbrydes til lavere Spaltningsprodukter, saa er dette sikkert langt ved Siden af det faktiske Forhold.

¹ Windisch & Schellhorn: Zeitschr. f. d. ges. Brauw. XVII, 409 ff. (1900).

² Forfatternes Udtryk.

³ Styrken angives ikke.

Fernbach & Hubert¹, der ogsaa have anstillet Autodigestionsforsøg med et Køllemaltudtræk (som var gjort sterilt ved Filtre-ring gennem et Chamberlandsk Filter) og have naaet at faa 45 % af det oprindeligt koagulable Æggehvidestof gjort ukoagulabelt, sige bl. a., at »under Brygningsprocessen foregaar Proteolysen ved 40°, men Optimumstemperaturen ligger nær ved 60°, og Aktiviteten er betydelig endnu ved 70°.« Disse Angivelser synes at afvige noget fra mine Forsøgsresultater, og jeg tvivler ogsaa om, at Optimum skulde ligge saa højt. Muligvis have de ikke tilstrækkelig mange Forsøgstemperaturer til nøjere at bestemme dette Punkt, hvilket ikke fremgaar af deres Meddelelse. Men naar de have fundet en betydelig Aktivitet endnu ved 70°, saa er det muligt, at Enzymet i det kølletørrede Malt er noget mere modstandsdygtig overfor højere Temperaturer end det, der vindes af Grøn malt.

Endvidere sige Forfatterne, at de Produkter, der dannes, ere forskellige efter Temperaturen. Ved Anvendelse af Fosfor-Wolframsyre som Fældningsmiddel for at adskille Pepton-Kvælstof fra Amin-Amid-Kvælstof fandt de »à 40° la totalité de l'azote appartient à des composés amidés, ne précipitable au reactif mentionné; à 60° l'azote amidé ne constitue plus que 50 % à 60 % de l'azote soluble, et à 70° à peine 40 %«. Dette Resultat, at Sønderdelingen gaar dybest ved forholdsvis lave Temperaturer, hvad Windisch & Schellhorn ogsaa mene at have fundet, stemmer i Hovedsagen med mine Resultater, men man maa ogsaa her erindre, at de alle have anvendt en lang Forsøgstid, under hvilken de først dannede Albumoser efterhaanden ere nedbrudte videre, idet den tryptiske Virksomhed (efter mine Forsøg) jo foregaar omtrent lige saa kraftigt ved 35° som ved 47°, medens den kun er ganske svag ved 60°. Albumosedannelsen er derimod ved Optimum efter ganske kort Tid (2—3 Timer) naaet saa vidt, som den overhovedet kommer, og foregaar ogsaa kraftigt endnu ved 60°.

Petit & Labourasse² have anstillet Mæskningsforsøg med let kølletørret (»faiblement touraillé«) Malt, som de digerererede med destilleret Vand i 2 Timer ved forskellige Temperaturer.

De finde et Maximum, for hvad der gaar i Opløsning, ved 55°, medens Albumose- og Amin-Amiddannelsen synes at være størst ved 40°—45°.

Af den Slags Forsøg som de her sidst omtalte kan man ikke direkte drage Slutninger om de proteolytiske Enzymers eller Pro-

¹ Fernbach & Hubert: Compt. rendus CXXX, 1783—85, (25/6 1900).

² Petit & Labourasse: Compt. rend. CXXXI, 349—41 (30/7 1900).

teolysens forskellige Fasers Afhængighed af Temperaturen. Forsøgsbetingelserne ere hertil altfor komplicerede. Her spille jo selve Extraktionsbetingelserne med ind, Koaguleringen af Æggehvide-stoffer, der allerede begynder ved forholdsvis lave Temperaturer, virker forstyrrende, og Manglen paa Reagenser til at adskille de forskellige Omdannelsesprodukter bliver endnu mere følelig. Alle de Tal, man faar, ere Forholdstal, og det er ikke muligt deraf at beregne de absolute Maal for Fermentevnen.

Jeg undlader derfor ogsaa at omtale de ret talrige Mæskningsforsøg ved forskellige Temperaturer, jeg selv har udført, idet jeg derom henviser, dels til hvad jeg tidligere har offentliggjort¹, dels til en Afhandling, som senere vil fremkomme i »Carlsberg Laboratoriets Meddelelser«, og hvori disse og en Række nye Forsøg ville blive bearbejdede for sig.

Naar derfor de Resultater, som de andre nævnte Forskere ere komne til, i visse Henseender synes at afvige fra mine, saa kan der herpaa ikke lægges nogen Vægt. I Virkeligheden ere Forsøg med Grøn maltudtræk, der virke paa et tilsat Æggehvidestof, inkommensurable med Autodigestionsforsøg med Køllemaltsudtræk eller Mæskningsforsøg med det køletørrede Malt. Muligvis kunne Enzymerne efter en Gang at have været køletørrede ogsaa senere virke ved højere Temperatur (Fernbach & Hubert), end naar de udtrækkes direkte af de friske spirende Frø², men af de korte Meddelelser, de franske Forskere have givet om deres Forsøg, kan man ikke kontrollere disse, og foruden de allerede paa pegede Forskjelligheder i deres og min Forsøgsmetode, kan der have været andre, som have øvet en afgjørende Indflydelse paa Resultaterne.

Skulde jeg kort sammenfatte, hvad jeg — af mine egne Forsøg — tør slutte om, hvorledes den proteolytiske Fermentevne i et Grøn maltudtræk³ (og her specielt Proteolysen af Hvedeprotein) er afhængig af Temperaturen, bliver det omtrent følgende:

1. Den første Fase i Proteolysen (Nedbrydningen til Albumoser) foregaar med ret kraftige Udslag allerede ved forholdsvis lave Temperaturer (4°, 20°) hurtigt

¹ Fr. Weis: Ueber das proteolytische und ein eiweisskoagulirendes Enzym in keimender Gerste (Malz). Zeitschr. f. physiol. Chemie XXXI, 79—97 (1900).

² Kjeldahl (se p. 7), der, saa vidt det kan forstaaes af hans Forsøgsjournal, ogsaa arbejdede med Køllemaltudtræk, fandt jo ogsaa kjendelige Virkninger ved 70°.

³ Fermentevnen i Køllemaltudtræk synes at forholde sig noget anderledes, i hvert Fald overfor højere Temperaturer.

og intensivt, og med et udpræget Optimum ved 51° , hvor Virkningen er omtrent dobbelt saa kraftig som ved 35° og 60° . Minimum ligger under 4° og Maximum ved eller under 70° .

2. Den dyberegaaende Spaltning (Omdannelsen af Albumoser til Produkter, der ikke fældes af Garvesyre), foregaar betydeligt langsommere end Albumosedannelsen. Den har sit Optimum mellem 45° og 50° (rimeligvis ved 47° — 48°), men Kurven løber paa dette Stykke omtrent parallelt med Abscisseaxen. Ved 35° er Virkningen kun lidet svagere end ved 47° , men ved 60° er den langt svagere og fuldstændig ophørt ved 70° . Ved 5° er der efter 2 Timer ingen, ved 15° kun en ganske svag Virkning at spore.

2. Afhængighed af Fermentmængden.

Fuldstændig exakte Undersøgelser over denne Faktors Indflydelse lade sig ikke anstille for noget Enzym, saalænge man ikke har fremstillet det i ren Tilstand, endsige i saadanne Tilfælde, hvor man ikke uden stærk Svækkelse af Fermentevnen kan bringe det i fast Form, men maa arbejde med Udtræk, der indeholde en Mængde andre Ting; saa snart man her vil variere Fermentmængden, varierer jo samtidig en Mængde andre Faktorer. I et Tilfælde som det foreliggende, hvor Maltudtrækket indeholder betydelige Mængder af dels upaavirkede, dels af de proteolytiske Enzymer omdannede Æggehvide-stoffer, vil jo bl. a. en Faktor som den samlede Æggehvide-stofkoncentration forandres samtidig med Fermentmængden. Og selv om man, som det nedenfor skal vises, er i Stand til tilnærmelsesvis at eliminere denne Forstyrrelse, ville andre Faktorer, som f. Ex. Forsøgsvæskens forskellige Indhold af Fosfater, der ogsaa tilsættes med Maltudtrækket, kunne virke modificerende paa Proteolysens Forløb.

Af de nedenanførte Forsøg over Fermentmængdens Indflydelse paa Proteolysen tør der saaledes ikke uddrages særlig betydningsfulde teoretiske Slutninger — ogsaa af den Grund, at de lide af Mangler, som ikke bunde i ovennævnte Forhold. Til en nøje Forstaaelse af den paagjældende Proteolyse og Kendskabet til de Enzymer, der fremkalde den, høre dog ogsaa Undersøgelser af denne Art, og jeg anfører derfor de af mine Forsøg, som have taget Sigte herpaa.

Kun i en enkelt Forsøgsrække har jeg anvendt Stannochlorid men ellers Garvesyre som Fældningsmiddel, hvorfor Resultaterne ogsaa hovedsagelig angaa den tryptiske Fase af Proteolysen.

Forsøgene, i hvilke der anvendtes Garvesyre, bleve udførte paa følgende Maade. For at forskyde Forholdet mellem de sædvanlige 10 Ccm. Proteïnopløsning og 10 Ccm. Maltudtræk op over denne sidste Mængde uden dog at forandre Forsøgsvæskens Koncentration af Proteïn og Mælkesyre, gik jeg ud fra stærkere Proteïnopløsninger end de sædvanlige (paa 2 %). Der blev da fremstillet en Opløsning med 5 % Proteïn i 1 procentholdig vandig Mælkesyre. I I. Forsøgsrække anvendtes heraf 10 Ccm. og med vexlende Mængder af Maltudtræk (0, 5, 10, 15 40 Ccm.) og Vand bragtes det samlede Rumfang altid op til 50 Ccm., der da indeholdt 1 % Proteïn og 0,2 % Mælkesyre. I II. Række anvendtes paa Grund af særlige Omstændigheder (se nedenfor) en noget svagere Proteïnopløsning, men i denne og i III. Række gik jeg ud fra 15 Ccm. Proteïnopløsning, og Rumfanget bragtes paa samme Maade som ovenfor op til 75 Ccm. For at kunne sammenligne de heraf vundne Resultater med andre, ere Tallene i nedenstaaende Tabeller reducerede til de sædvanlige 20 Ccm. Forsøgsvæske med 1 % Proteïn og 0,2 % Mælkesyre (med Undtagelse af II. Række). — Samtidig anstilledes nogle Selvdigestionsforsøg med de samme Maltudtræk, fortyndede med Vand til samme Rumfang og med Tilsætning af en tilsvarende Mængde Mælkesyre. Ved at drage de herved vundne Tal fra den samlede Mængde omdannet Kvælstof faas, hvormeget af dette der skyldes Omdannelse af Proteïn alene. Da der endvidere i forskellige Mængder Maltudtræk naturligtvis altid paa det nærmeste vil være samme Forhold mellem Totalkvælstofmængden og Mængden af det Kvælstof, der unddrager sig Fældning, og da der i samme Forsøgstid — hvad talrige andre Autodigestionsforsøg have overbevist mig om — altid forholdsvis omdannes omtrent samme Mængde Kvælstof, vil man i de anførte Tabeller ikke alene kunne beregne Omfanget af Autodigestionen for alle anvendte Mængder Maltudtræk, men man vil ogsaa med en vis Ret kunne anvende de samme Værdier i Forsøgsrækker, hvor ingen Autodigestionsforsøg ere medtagne.

Forsøgene anstilledes ved 47° og varede 2 Timer.

I. Række (Forss. 379—414). Maltudtrækket indeholdt i 10 Ccm. 16,35 Mgm. Kvælstof, deraf 8,88 Mgm., som ikke fældedes af Garvesyre. Den anvendte Proteïnmængde (omregnet til 0,2 Gm., der svarer til 10 Ccm. af en Opløsning paa 2 %) indeholdt 30,42 Mgm. N.

Totalkvælstoffet i Forsøgsvæsken varierede da med Maltudtrækkets Mængde som angivet i Tabellens anden Kolonne.

I. Række.

30,42 Mgm. Protein-N.	Total-N.	N. i Filtratet		Omdannet N.		
		Strax	Efter 2 Timer	ialt	af Maltudtræk	af Protein
	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.
0 Ccm. Maltudtræk med 0,00 Mgm. N.	30,42	0,08	0,08	—	—	—
2 — — — 3,27 —	33,69	1,80	2,97	1,17	(0,47)	(0,70)
4 — — — 6,54 —	36,96	3,60	6,58	2,98	1,02	1,96
6 — — — 9,81 —	40,23	5,40	10,98	5,58	(1,41)	(4,17)
8 — — — 13,08 —	43,50	7,20	14,26	7,06	1,81	5,25
10 — — — 16,35 —	46,77	9,00	18,18	9,18	(2,35)	(6,83)
16 ¹ — — — 26,16 —	56,58	14,40	26,26	11,86	3,75 ²	8,11

II. Række (Forss. 415—438.) Maltudtrækket indeholdt i 10 Ccm. 17,21 Mgm. Kvælstof, deraf 9,56 Mgm., som ikke fældedes af Garvesyre. Proteïnopløsningen var den samme som i forrige Række, men for at faa den til at slaa til, fortyndedes 275 Ccm. à 5 % til 310 Ccm. Forsøgsvæsken, reduceret til 20 Ccm., kom saaledes kun til at indeholde 23,84 Mgm. Proteïnkvælstof. Efter et Opkog var der tillige bleven sat noget Thymol til Proteïnopløsningen, hvilket tilligemed den forholdsvis svagere Koncentration har bevirket, at Maltudtrækket, trods noget højere Kvælstofindhold, dog har virket en Smule svagere end det, der anvendtes i forrige Forsøgsrække.

III. Række (Forss. 623—646). Her blev ikke gjort Bestemmelse af Totalkvælstof i Maltudtrækket, men af 10 Ccm. unddrog 10,00 Mgm. Kvælstof sig Fældningen med Garvesyre. Der blev heller ikke gjort Kvælstofbestemmelse i Proteïnopløsningen, men jeg gik ud fra en Opløsning paa 5 %, saa der i den reducerede Forsøgsvæske (20 Ccm.) vil have været c. 30,00 Mgm. Proteïnkvælstof = 1 % Protein. Virkningerne vare i denne Række betydelig kraftigere end i de foregaaende.

¹ Forsøgene med 12 og 14 Ccm. Maltudtræk gik tabt.

² Autodigestionen vil efter de 3 Bestemmelser for 4, 8 og 16 Ccm. Maltudtræk i 2 Ccm. udgjøre c. 0,47 Mgm., hvorefter de i Parenthes anførte Tal ere beregnede. En liguende Beregning er anvendt i de følgende Tabeller.

II. Række.

23,84 Mgm. Protein-N.	Total-N.	N. i Filtratet		Omdannet N.		
		Strax	Efter 2 Timer	ialt	af Maltudtræk	af Protein
	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.
6,6 Ccm. Maltudtr. med 11,35 Mgm. N.	35,19	6,56	11,66	5,10	1,51	3,59
8,0 — — — 13,76 —	37,60	7,82	14,71	6,89	(1,84)	(5,05)
9,3 — — — 16,00 —	39,84	9,09	16,90	7,81	(2,13)	(5,68)
10,6 — — — 18,23 —	42,07	10,36	18,90	8,54	(2,43)	(6,11)
12,0 — — — 20,64 —	44,48	11,62	20,71	9,09	(2,76)	(6,33)
13,3 — — — 22,88 —	46,72	12,89	22,49	9,60	3,06	6,54
14,6 — — — 25,11 —	48,95	14,16	24,27	10,11	(3,36)	(6,75)
16,0 — — — 27,52 —	51,36	15,42	26,28	10,86	(3,69) ¹	(7,17)

III. Række.

0,2 Gm. Protein	N. i Filtratet		Omdannet N.		
	Strax	Efter 2 Timer	ialt	af Maltudtræk	af Protein
	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.
0,0 Ccm. Maltudtræk.....	0,02	0,02	—	—	—
2,6 — — —	2,67	5,42	2,75	(0,61)	(2,14)
5,3 — — —	5,34	12,10	6,76	(1,24)	(5,52)
8,0 — — —	8,01	18,03	10,02	(1,88)	(8,14)
10,6 — — —	10,68	23,16	12,48	(2,47)	(10,01)
13,3 — — —	13,35	27,95	14,60	(3,12)	(11,48)
16,0 — — —	16,02	30,77	14,75	(3,75) ¹	(11,00)

Til Sammenligning med disse Forsøg hidsættes en Forsøgsrække, i hvilken der blev anvendt Stannochlorid som Fældningsmiddel:

IV. Række (Forss. 1919—1930, 1936—1140). Det her anvendte Maltudtræk indeholdt i 10 Ccm. 18,54 Mgm. Total-Kvælstof, og heraf 12,42 Mgm., som ikke fældedes af Stannochlorid. Der benyttedes i alle Forsøg 10 Ccm. af en Proteinopløsning paa 2 % med 31,74 Mgm. Kvælstof. Der varieredes med Maltudtræk

¹ Se Anm. p. 50.

fra 0—10 Ccm. og hvor der ikke anvendtes netop 10 Ccm., fortyndedes der med Vand, saa Forsøgsvæskens Rumfang altid var 20 Ccm. Der anstilledes her ingen Selvdigestionsforsøg med Maltudtræk alene¹. Forsøgstemperaturen var 51° og Tiden 2 Timer.

IV. Række.

31,74 Mgm. Protein-N.	Total-N.	N. i Filtratet		Omdannet N.	
		Strax	Efter 2 Timer	Ialt	Af Protein alene ²
	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.
0 Ccm. Maltudtræk med 0,00 Mgm. N.	31,74	1,64	1,64	0,00	—
2 — — — 3,71 —	35,45	4,12	10,84	6,72	(6,20)
4 — — — 7,40 —	39,14	6,60	22,04	15,44	(14,40)
6 — — — 11,10 —	41,84	9,08	32,56	23,48	(21,92)
8 — — — 14,80 —	46,54	11,56	38,84	27,28	(25,20)
10 — — — 18,54 —	50,28	14,06	43,28	29,22	(26,62)

Resultaterne af disse Forsøgsrækker ere udtrykte grafisk paa Tavle II, hvor de to øverste Kurver (en optrukken og en punkteret) angive, hvor meget Kvælstof der i den anvendte Forsøgstid har unddraget sig Fældning med Stannochlorid, medens alle de andre paa samme Maade angive Garvesyrefældningen. Den nederste er med Garvesyre som Fældningsmiddel et Udtryk for Selvdigestionen i et af de anvendte Maltudtræk, de andre optrukne Kurver angive den samlede Mængde omdannet Kvælstof i Protein + Maltudtræk, medens de to punkterede vise, hvor meget af Protein alene der er blevet omdannet i I. og IV. Forsøgsrække.

Det siger sig selv, at de Kurver, der angive den samlede Mængde omdannet Kvælstof, maa stige med Mængden af Maltudtræk, men derimod kunde man tænke sig, at Proteinomdannelsen ikke blev forøget med Fermentmængden ud over en vis Grænse.

¹ Til Sammenligning tjener derfor nogle Data fra en anden Forsøgsrække, hvor det paagjældende Maltudtræk i 10 Ccm. indeholdt 19,10 Mgm. Kvælstof og 12,70 Mgm. Kvælstof, som ikke fældedes af Stannochlorid. Efter 3 Timers Selvdigestion ved 47° unddrog 15,24 Mgm., efter 5 Timer 15,44 Mgm. Kvælstof sig Fældningen med Stannochlorid. Der var altsaa i de paagjældende Tidsrum omdannet 2,54 og 2,74 Mgm. og altsaa 3,86 og 3,66 Mgm. uomdannet Kvælstof tilbage.

² Beregnet efter den i foregaaende Anmærkning anførte Værdi for Autodigestionen (benyttet for 10 Ccm. 2,6 Mgm.).

De to punkterede Kurver vise ogsaa Antydninger i den Retning, idet de stadig bøje mere og mere ind mod Abscisseaxen. En omtrentlig Proportionalitet mellem Proteïnom sætning og Fermentmængden synes for den peptiske Virkning at være tilstede med indtil 6 Ccm. Maltudtræk, for den tryptiske indtil c. 10 Ccm.

3. Afhængighed af Proteïnopløsnings Koncentration.

Ved de orienterende Forsøg over, under hvilke Betingelser (Temperatur, Tiden, Syregrad osv.) man kunde vente at arbejde med forholdsvis størst Udbytte, var det ogsaa af Betydning at vælge en passende Koncentration af det Æggehvdestof (her Hvedeproteïn), som jeg lod Maltudtrækket virke paa, d. v. s. en saadan, der ikke traadte hindrende i Vejen for Enzymernes Virksomhed, som gav kjendelige Udslag ved smaa Variationer i de tilstedeværende Forsøgsbetingelser, uden at dog Reaktionen førtes til Ende indenfor den i Almindelighed anvendte Forsøgstid, og som tillige var let og bekvem at anvende med Henblik paa Kvælstofbestemmelserne, ved hvilke man jo som bekjendt helst ikke skal have altfor store Mængder Kvælstof i Prøverne. Her havde en Opløsning paa 2 % Proteïn, hvoraf 10 Ccm. indeholdt c. 30 Mgm. Kvælstof, og som blandet med sit lige Rumfang Maltudtræk gav en Koncentration af 1 % Proteïn, vist sig særdeles passende indenfor den i Grundforsøgene anvendte Forsøgstid, 2 Timer, navnlig saalænge jeg kun benyttede Garvesyre som Fældningsmiddel og derved kun undersøgte den dyberegaende Fase i Proteolysen (Tryptasens Virkninger).

Valget af denne Koncentration støttedes tillige af nedenanførte Forsøg, i hvilke der anvendtes Opløsninger, der efter Til sætning af Maltudtræk gave Koncentrationer af Proteïn paa $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, 1, 2, 3, 4 og 5 %, og bestemtes, baade hvor meget der absolut, og hvor meget der procentisk (af Proteïnkvælstofmængden) i de forskjellige Koncentrationer unddrog sig Fældningen med Garvesyre efter 2 og 5 Timers Indvirkning af Maltudtrækket.

I de 3 Forsøgsrækker A (Forss. 717—736), B (Forss. 737—752) og C (Forss. 753—774), anvendtes 3 forskjellige Maltudtræk. I ingen af disse gjordes Total-Kvælstofbestemmelse, men 10 Ccm. deraf indeholdt i Filtratet fra Garvesyrebundfaldet henholdsvis 9,84, 9,74 og 8,64 Mgm. Kvælstof. De forskjellige Proteïnkonzentrationer bleve alle fremstillede af samme 10 Procents Proteïnopløsnings, hvoraf 1 Ccm. indeholdt 15,09 Mgm. Kvælstof. For at afgjøre, hvor meget af selve Proteïnet der efterhaanden unddrog sig Garvesyrefældningen, gjordes der ogsaa Forsøg med Maltud-

træk alene med Tilsætning af mælkesurt Vand istedet for Proteinopløsningen. I nedenstaaende Tabel og paa Tavle III a og b findes Resultaterne af alle 3 Forsøgsrækker fremstillede.

1 % Protein = 30,18 Mgm. Proteinkvælstof	A.			B.			C.		
	Fors. 717-736 Efter 2 T. v. 47° Omdannet N.			Fors. 737-752 Efter 2 T. v. 47° Omdannet N.			Fors. 753-774 Efter 5 T. v. 47° Omdannet N.		
	ialt	af Protein	i % af Protein N.	ialt	af Protein	i % af Protein N.	ialt	af Protein	i % af Protein N.
0,00 % Protein	Mgm. 2,76	Mgm. 0,00	% 0,00	Mgm. 2,76	Mgm. 0,00	% 0,00	Mgm. 3,04	Mgm. 0,00	% 0,00
0,25 - = 7,55 Mgm. N	4,64	1,88	24,9	—	—	—	6,46	3,42	45,3
0,50 - = 15,09 —	6,28	3,52	23,3	—	—	—	9,60	6,56	43,5
1,00 - = 30,18 —	9,24	6,48	21,5	9,36	6,60	21,9	13,96	10,92	36,2
2,00 - = 60,36 —	12,20	9,44	15,6	13,00	10,24	17,0	18,66	15,62	25,9
3,00 - = 90,54 —	15,74	12,98	14,3	14,58	11,82	13,1	21,38	18,34	20,3
4,00 - = 120,72 —	15,30	12,54	10,4	13,80	11,04	9,1	22,32	19,28	16,0
5,00 - = 150,90 —	15,48	12,72	8,4	14,68	11,92	7,9	22,96	19,92	13,2

Det ses, at ved de lave Koncentrationer omdannes der absolut mindst, men procentisk mest af Proteinnet. I alle Forsøgene er Maximum af Virkning naaet ved et Indhold af 3—4 % Protein, 3: der omdannes her ligesaa meget Proteinkvælstof som ved højere Koncentrationer (5 %), eller Kurverne løber herfra indenfor en bestemt Forsøgstid (2 eller 5 Timer) omtrent parallelt med Abscisseaxen. Men procentisk faas her kun c. halvt saa stor Virkning som ved 1 %. Ved at vælge denne Koncentration til Grundforsøgene opnaas da ogsaa en betydelig Besparelse af Proteinnet, hvis Fremstilling kræver baade megen Tid og meget Arbejde.

I andre Forsøg, der først skulle meddeles senere, fordi her ogsaa undersøgtes Indflydelsen af Forsøgstiden ved forskellige Koncentrationer af Protein (1, 2½ og 5 %), blev der samtidig anvendt Stannochlorid og Garvesyre til Fældningen. Af disse Forsøg kunde Resultaterne ved 2 Timers og 5 Timers Indvirkning godt rives ud af deres Sammenhæng og sammenstilles med de lige nævnte, men jeg vil dog nøjes med her at henvise til det paagjældende Afsnit, saavel til Tabellen som til de Slutninger, jeg drager af disse Forsøg. (Se II. Afsn., 7.)

4. Afhængighed af Tiden.

Ved alle Fermentvirkninger er Tiden et Forhold, som der maa regnes med under Bestemmelsen af alle andre Faktoreres Indflydelse. Ved Maaling af Fermentevne og til Bestemmelsen af en Gjærings Intensitet indgaar, som ved Maaling af ethvert mekanisk Arbejde, selvfølgelig altid Tiden i Definitionen.

Den Tid, de forskellige Enzymer benytte for at føre den for dem karakteristiske Reaktion til Ende eller til det Punkt, hvortil den under de givne Forsøgsbetingelser overhovedet kan føres, er meget forskjellig og retter sig efter Forhold som Temperatur, Fermentmængde, Gjæringsmaterialets Art og Koncentration, Forsøgsvæskens Reaktion, fremmede Stoffers Nærværelse osv. Men ere ellers de gunstigst mulige Forhold tilstede, ser man f. Ex., at Løbeenzymet fører den for det karakteristiske Reaktion til Ende saa at sige momentant eller i Løbet af nogle faa Minutter, at Diastase naaer sit Maximum i Løbet af $1\frac{1}{2}$ —1 Time, medens Invertase kan vedblive at virke i flere Timer, ja i Dage, og andre Enzymer, bl. a. en Del proteolytiske, fortsætter i Maaneder. Man har vel nok i Almindelighed anset disse sidste, navnlig de tryptiske, for ret langsomt virkende, og flere af de Forskere (Green, Butkewitsch, Windisch & Schellhorn), der have arbejdet med vegetabiliske proteolytiske Enzymer, have da med Forkjærlighed benyttet lange Forsøgstider. Dette har, som jeg her skal paavise, bevirket, at de første Faser i Proteolysen, Albumosedannelsen f. Ex., for en Del ere undgaaede deres Opmærksomhed, hvorfor man heller ikke er bleven klar over, hvor hurtigt forløbende og intensiv en Proces Proteolysen i Virkeligheden kan være.

Under den første Tid af mit Arbejde — saalænge jeg endnu kun benyttede Garvesyre som Fældningsmiddel — var jeg ledet af den forudfattede Antagelse, at Proteolysens Afhængighed af Tiden vilde finde sit Udtryk i en Kurve, der efter nogle Timers Forløb havde naaet sit Maximum og derefter løb omtrent parallelt med Abscisseaksen. Men da mine (første) Forsøg ikke bekræftede denne Antagelse, var jeg tilbøjelig til at tilskrive det andre Faktorer (f. Ex. Bakteriers) forstyrrende Indgriben i Processen. Jeg gjentog derfor fra Tid til anden disse Forsøg, idet jeg stadig varierede Forsøgsbetingelserne noget (og bl. a. tog Sigte paa at udelukke Bakterier ved Tilsætning af Thymol). Men alle Forsøgsrækker gave i Hovedsagen samme Resultat: en jævn Stigning af Kurven i hvert Fald indtil og udover 24 Timers Forsøgstid. Jeg har vel saaledes anstillet flere Forsøg end strengt

taget nødvendigt til Bestemmelse af Tidskurven for den tryptiske Fase i Proteolysen, men da de alle bekræfte hinanden, skal jeg ogsaa anføre dem her.

Resultaterne ville findes i omstaaende Tabel (se ogsaa Tavle IV). Her blot nogle Oplysninger om Forsøgsbetingelserne.

I. Række (Forss. 28—44) anstilledes ved 50°. Maltudtrækket var tilberedt af 1 Del Grøn malt og 2 Dele Vand. 10 Ccm. af det indeholdt 5,23 Mgm. Kvælstof, som ikke fældedes af Garvesyre.

II. Række (Forss. 56—69) var kun forskjellig fra foregaaende ved, at 6,39 Mgm. Kvælstof i 10 Ccm. af Maltudtrækket unddrog sig Garvesyrefældningen.

III. Række (Forss. 473—508) anstilledes ved 47°. Maltudtrækket, der var tilberedt af 3 Dele Malt og 4 Dele Vand, indeholdt i 10 Ccm. 19,33 Mgm. Total-Kvælstof og 10,60 Mgm. Kvælstof, som ikke fældedes af Garvesyre. 10 Ccm. Proteinopløsning indeholdt 29,90 Mgm. Total-Kvælstof. Forsøgsvæsken ialt altsaa 49,23 Mgm. Af 10 Ccm. Maltudtræk + 10 Ccm. Proteinopløsning unddrog 10,72 Mgm. Kvælstof sig Garvesyrefældningen. Fra og med 5 Timers Forsøgstid blev der tilsat Thymol, der nedstemte Virkningen noget.

IV. Række (Forss. 647—670). 47°. Jeg har ingen Optegnelser om Maltudtrækkets Tilberedning eller dets Totalkvælstofindhold, kun at 7,10 Mgm. Kvælstof unddrog sig Garvesyrefældningen. Ingen Tilsætning af Antiseptika. Efter 24 Timer lugtede Forsøgsvæsken ganske friskt, maaske lidt syrligt, men ikke raadent¹.

Tallene i Tabellens første Kolonne indenfor hver Række udtrykker i Mgm., hvor meget Kvælstof der ialt unddrog sig Fældning med Garvesyre, anden Kolonne, hvor meget der da var omdannet i Forsøgstiden.

Af Tabellen ses, at der baade i II. og III. Række endnu foregaar en kjendelig Virkning mellem 24 og 48 Timer, medens der mellem 48 og 72 Timer ikke er sket noget (III. R.).

Naar Kurverne (se Tavle IV) for I. og II. Række ligger lavere end de andre, kommer det dels af, at de anvendte Maltudtræk vare svagere, dels, at Forsøgstemperaturen, 50°, ikke har

¹ Den sure Reaktion er i og for sig ugunstig for Bakterievegetation, og jeg har da heller aldrig iagttaget nogen Forraadnelse eller Gjæring i Forsøgsvæsken, selv efter langvarige Forsøg, naar Maltudtræk og mælkesurt Protein var blandet. I Maltudtræk alene indtraadte der derimod snart enten en sur Gjæring eller en stinkende Forraadnelse.

Fældning med Garvesyre.

Timer	I. Række. 50°		II. Række. 50°		III. Række. 47° (Thymol efter 5 Timer)		IV. Række. 47°	
	N. i Filtr.	Omd. N.	N. i Filtr.	Omd. N.	N. i Filtr.	Omd. N.	N. i Filtr.	Omd. N.
Efter	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.
0	5,23	"	6,39	"	10,72	"	7,10	"
1/2	6,71	1,48	"	"	13,86	3,14	"	"
1	8,34	3,11	"	"	16,52	5,80	12,44	5,34
1 1/2	8,68	3,45	"	"	17,86	7,14	"	"
2	"	"	11,97	5,58	19,26	8,54	15,52	8,42
2 1/2	"	"	"	"	21,06	10,34	"	"
3	11,17	5,94	13,24	6,85	(22,72)	(12,00)	16,92	9,82
3 1/2	"	"	"	"	"	"	18,10	11,00
4	"	"	14,24	7,85	22,06	11,34	19,04	11,94
4 1/2	"	"	"	"	"	"	19,36	12,26
5	"	"	14,96	8,57	23,66	12,94	20,08	12,98
6	"	"	"	"	24,04	13,32	20,80	13,70
9	"	"	"	"	24,92	14,20	24,32	17,22
12	"	"	"	"	25,64	14,92	"	"
18	16,10	10,87	"	"	"	"	"	"
24	"	"	22,09	15,70	29,22	18,50	30,98	23,88
48	"	"	25,94	19,55	32,42	21,70	"	"
72	"	"	"	"	32,64	21,92	"	"

været slet saa gunstig som 47°. Naar Kurven for III. Række efter 5 Timer bøjer ned mod Abscisseaxen, kan dette tilskrives det tilsatte Thymols svækkende Indflydelse paa Enzymet.

Paa Tavle IV er der tillige optegnet en Kurve, der meddeler Resultaterne af nogle Forsøg, som skulde vise Forløbet indenfor den første Del af Forsøgstiden af den Proces, der afdækkes ved Stannochloridfældningen. Det har sin særlige Interesse at se denne Kurve sammenstillet med Garvesyre-Kurverne, og skjønt de paagjældende Forsøg ere anstillede noget senere end de følgende, behandler jeg dem dog først:

V. Række (Forss. 1917—26 og 1946—52). Forsøgstemperaturen var 51°, Maltudtrækket tilberedt af 3 Dele Malt + 4 Dele Vand og indeholdt i 10 Ccm. 18,54 Mgm. Kvælstof; Proteinopløsningen tilsvarende 31,74 Mgm., ialt 50,28 Mgm. Totalkvælstof. Begge Opløsninger bleve i Forvejen opvarmede til Forsøgstemperaturen.

Fældning med Stannochlorid.

V. Række. 51°.

	N. i Filtratet	Omdannet N.	Omdannet N. pr. 15 Min.
	Mgm.	Mgm.	Mgm.
Efter 0 Timer	14,94	—	—
— 1/4 —	27,80	12,86	12,86
— 1/2 —	33,16	18,22	5,36
— 3/4 —	37,92	22,98	4,76
— 1 —	40,04	25,10	2,12
— 2 —	43,28	28,34	0,81
— 3 —	43,68	28,74	0,10
— 3 1/4 —	43,60	28,66	(÷ 0,08)

Disse Tal og den deraf tegnede Kurve vise, hvor hurtigt den paagjældende Proces gaar for sig. Efter 2 Timers Forløb har den omtrent naaet sit Maximum; der er i hvert Fald ingen Stigning fra 3—3 1/4 Time, og efter andre Forsøg at dømme (se næste Række) er det at antage, at Kurven efter de 3 Timer vilde forløbe omtrent parallelt med Abscisseaxen, hvorfor den herefter er afsat som en punkteret Linie. Stigningen er stærkest i det første Kvarter, betydeligt mindre i det næste og stadig aftagende. Hertil kan Forklaringen søges dels i, at Gjæringsmaterialet efterhaanden forbruges, og Koncentrationen saaledes bliver svagere, dels i de ophobede Omdannelsesprodukters hæmmende Indflydelse. —

Ud fra den Antagelse, at de egentlige Æggehvide-stoffer og deres Omdannelsesprodukter ved Anvendelsen af forskellige Fældningsmidler lade sig adskille gruppevis (f. Ex. efter H. Schjernings Metoder) bragte jeg en Række saadanne i Anvendelse og varierede mine Forsøg paa forskellig Maade, bl. a. ogsaa ved at lade dem vare kortere eller længere Tid. Det havde jo sin store Interesse at se, hvorledes Forholdet mellem de forskellige Fældningsprodukter holdt eller forskød sig indenfor saadanne Forsøgstider, hvor man nogenlunde saa sig i Stand til at holde de øvrige Betingelser konstante. Jeg fik da herom ogsaa ganske interessante Resultater gennem følgende Forsøg:

VI. Række (Forss. 1711—1776). De anstilledes ved 47°, da jeg endnu ikke vidste, at de forskellige Virksomheder havde forskellige Temperaturoptima. Maltudtrækket var tilberedt af 3 D. Malt og 4 D. Vand og indeholdt pr. 10 Ccm. 18,84 Mgm. Kvæl-

stof. Med 31,46 Mgm. Kvælstof i 10 Ccm. af Proteïnopløsningen var Forsøgsvæskens Totalkvælstof altsaa 50,30 Mgm. Der anvendtes 50 Ccm.'s Maalekolber for at undgaa stærke Fortyndinger eller at bruge altfor meget af Fældningsmidlerne. I de Forsøg, der varede 24 og 48 Timer, blev der fra Tid til anden tilsat Toluol. Som Fældningsmidler blev der, foruden Stannochlorid og Garvesyre ogsaa anvendt Zinksulfat og Uranacetat. Men desuden bestemtes ved direkte at destillere Forsøgsvæsken med brændt Magnesia, hvor meget Kvælstof der til forskellige Tider var tilstede som Ammoniak. — Før jeg meddeler Resultaterne af disse Forsøg, maa jeg forudskikke nogle Bemærkninger om, hvorledes disse nye Fældningsmidler bragtes i Anvendelse, og om Udførelsen af Ammoniakbestemmelsen.

Fældningen med Zinksulfat blev udført efter den af A. Bömer¹ og senere af E. Zunz² o. fl. benyttede Metode. Forinden Tilsætningen af Zinksulfat blev Forsøgsvæsken gjort svagt sur ved Tilsætning af 1 Ccm. fortyndet Svovlsyre (1 Del conc. Svovlsyre paa 4 Dele Vand) for at hindre Udfældning af Zinkfosfat. Lidt mere end den til Mætning af Forsøgsvæsken nødvendige Zinksulfatmængde (c. 27 Gm.) blev dernæst tilsat i Pulverform, Kolberne blev rystede rundt, og der blev fyldt op til Mærket med en mættet vandig Opløsning af Saltet. Det maatte nøje paases, at der blev tilsat saa meget af dette, at der efter 24 Timers Henstand endnu var en lille Del uopløst tilbage. Før Filtreringen bragtes den let i Opløsning ved en svag Opvarmning af Kolben. Inddampningen af Filtratet (før Tilsætn. af conc. Svovlsyre) foretoges i en Varmekasse ved 105° i Løbet af Natten.

Til Fældningen med Uranacetat blev efter H. Schjernings³ Angivelser benyttet en mættet Opløsning (paa c. 7 %) af dette Stof, og der blev fyldt op med den til Mærket paa Kolben (med omtrent 30 Ccm.). Efter Opvarmning paa kogende Vandbad i c. 10 Min. samlede Bundfaldet sig smukt, og Kolberne henstilledes paa et Sted, hvor de vare beskyttede mod Lyset, indtil Filtreringen foregik.

Til Ammoniakbestemmelsen afbrødes Forsøgene ved at bringe Kolberne paa kogende Vandbad i 5—10 Minutter (for at standse Enzymvirkningen), og for at dræbe og udelukke Bakterier tilsattes derefter en rigelig Mængde Toluol. Dette dampedes

¹ A. Bömer: Zeitschr. für anal. Chemie (Fresenius) XXXIV, 562 (1895).

² E. Zunz: Zeitschr. für physiol. Chemie XXVII, 219 (1899).

³ H. Schjerning: Zeitschr. f. anal. Chemie XXXVII, 413 (1898).

senere, efter Tilsætning af en ringe Mængde fortyndet Svovlsyre, af ved Kogning paa Vandbad (paa Grund af dets høje Kogepunkt gaar Afdampningen noget langsomt), da det ellers under Destillationen bevirkede en meget generende Skumdannelse. Til Destillationen af hver Kolbes Indhold anvendtes 2 Gm. brændt Magnesia, og Ammoniakbestemmelsen udførtes saa ellers paa sædvanlig Maade.

Resultaterne af disse Forsøg ere sammenstillede i nedenstaaende Tabel, hvor Tallene i første Kolonne for hvert Fældningsmiddel angive, hvor meget Kvælstof i Milligram der har unddraget sig Fældning med dette, og anden Kolonne, hvor meget Kvælstof der paa den Maade pr. Time af de paa hinanden følgende Forsøgstider er blevet omdannet. Rubriken under »Magnesia« angiver paa tilsvarende Maade, hvor meget Kvælstof der er tilstede i Form af Ammoniak og omdannet hertil pr. Time.

VI. Række. 47°. Total-N. 50,30 Mgm.

Forss. 1711—1776	Stannochlorid		Zinksulfat		Garvesyre		Uranacetat		Magnesia	
	Mgm. N.		Mgm. N.		Mgm. N.		Mgm. N.		Mgm. N.	
	i Filtratet	Omdannet pr. Time	i Filtratet	Omdannet pr. Time	i Filtratet	Omdannet pr. Time	i Filtratet	Omdannet pr. Time	i Destillatet	Dannet pr. Time
Efter 0 Timer	15,62	—	11,60	—	10,48	—	9,64	—	1,06	—
— 1 —	40,40	24,78	18,64	7,04	16,96	6,48	20,12	10,48	1,35	0,29
— 2 —	42,36	1,96	24,28	5,64	21,16	4,20	24,84	4,72	—	—
— 3 —	43,76	1,40	25,24	0,96	23,52	2,36	26,74	1,90	2,84	0,75
— 4 —	43,72	÷0,04	28,54	3,30	24,80	1,28	27,24	0,50	—	—
— 5 —	43,76	0,04	30,04	1,50	25,80	1,00	28,80	1,56	—	—
— 6 —	44,68	0,92	31,52	1,48	27,04	1,24	29,00	0,20	3,42	0,19
— 9 —	45,16	0,16	34,12	0,87	31,16	1,37	32,20	1,07	—	—
— 12 —	45,28	0,04	37,96	1,28	34,96	1,27	33,92	0,57	4,48	0,17
— 24 —	45,76	0,04	40,44	0,21	38,04	0,26	—	—	4,76	0,02
— 48 —	45,32	÷0,02	43,88	0,15	41,08	0,13	33,28	0,12	5,20	0,02

Desuden findes disse Forsøgsresultater grafisk fremstillede paa Tavle V. Stannochloridkurven viser samme hurtige Stigning som den tilsvarende Kurve i V. Forsøgsrække. I Løbet af den første Time er Hovedmassen af og efter 3 Timer saa godt som

alt det Kvælstof omdannet, der overhovedet lader sig omdanne, og dette vil, som tidligere berørt, sige saa godt som alt det tilstedeværende Proteïnkvalstof. Fra 3 til 9 Timer er der dog stadig en svag Stigning, der i det hele andrager c. 2 Milligram Kvælstof. Fra 9—48 Timer løber Kurven derimod absolut parallel med Abscisseaxen; de smaa Variationer i Kvælstofmængderne, der findes her, kunne let skrives paa Forsøgsfejlenes Regning. — Naar den Proces, som Stannochloridkurven er Udtryk for, saaledes saa hurtigt føres til Ende, maa man erindre, at det jo ogsaa er en forholdsvis svag Koncentration af Proteïin (1 %), der arbejdes med, og andre Forsøg have vist, at Kurven faar et andet Udseende, naar der benyttes stærkere Koncentrationer (se pag. 68 ff.). Medens den Virksomhed, som Stannochloridfældningen afdækker, saaledes forholdsvis hurtigt er til Ende, vise de andre Fældningskurver, at Proteolysen dog fortsættes, idet de første Omdannelsesprodukter nedbrydes videre. — Paa dette Sted skal jeg ikke komme nærmere ind paa den kvalitative Side af Proteolysen, men kun minde om, at Zinksulfat foruden uomdannede Æggehvidthoffer tillige fælder eller udsalter Albumoserne, at Garvesyre rimeligvis i dette Tilfælde desuden for Størstedelen fælder de ægte Peptoner, samt at Uranacetat — efter Schjerning¹ — fælder alt, hvad der kaldes Peptoner og derover, og altsaa i Opløsningen kun efterlader Hexonbaser, Aminer, Amider og andre dyberegaende, krystallinske Spaltningsprodukter. Man ser da, at de Virksomheder, som disse Kurver ere Udtryk for, fortsættes langt ud over de 9 Timer og indtil 12 Timer endog med ret stor Intensitet. Herefter er der en langsommere, men dog stadig kjendelig, Stigning op til 48 Timer og rimeligvis endnu videre. Efter de 48 Timer er Zinksulfatkurven lige ved at skjære Stannochloridkurven, hvilket vil sige, at omtrent alle de først dannede Albumoser ere omdannede videre. Den indbyrdes Afstand mellem Zinksulfat- og Garvesyrekurven har holdt sig omtrent konstant fra 2 til 48 Timers Forsøgstid, hvilket tyder paa, at de Stoffer, som denne Afstand betegner, nedbrydes ligesaa hurtigt, som de dannes, at de ligesom blot ere et Gjennemgangsled fra Albumoserne til andre Forbindelser. Uranacetatkurven, der de første 3 Timer fulgte tæt op ad Zinksulfatkurven, bøjer derefter nedad og skjærer Garvesyrekurven, men løber dog efter 12 Timers Forsøgstid igjen omtrent parallelt med de andre med stadig Stigning til 48 Timer. Efter denne Tids Forløb er da ogsaa langt den største Del (76,1 %) af Totalkvælstoffet til Stede i Forbindelser,

¹ Schjerning: Zeitschr. f. anal. Chemie XXX, 419 (1898).

der ere mindre sammensatte end Peptoner (o: som ikke fældes af Uranacetat), medens der ved Forsøgets Begyndelse kun var 19,1 % af disse Stoffer tilstede (o: 57 % ere blevne omdannede). Og den Kurve, der angiver det direkte med Magnesia afdestillerede Kvælstof, oplyser tillige om, at Proteolysen er gaaet saa dybt som til Ammoniakdannelse, og at der er dannet ikke ganske ubetydelige Mængder heraf.

Alt i alt vil det ses, at det Billede, man faar af Proteolysens forskellige Faser ved Anvendelsen af forskellige Fædningsmidler, varierer meget stærkt med Forsøgstiden, og at denne derfor er et Forhold, der har afgjørende Indflydelse paa de Resultater, man kommer til, naar man lader en Faktor variere under forskellige Forsøgstider (se de følgende Afsnit).

5. Afhængighed af Tiden ved forskellige Temperaturer.

Man kan paa Forhaand vente, at et Enzym ved en lavere Temperatur end Optimum i Hovedsagen vil kunne frembringe samme Virkning som ved dette Punkt, naar det blot faar en længere Tid at virke i. Men lader man det virke ved Temperaturer over Optimum, vil muligvis en nok saa lang Forsøgstid ikke bøde paa den mindre gunstige Temperatur, da det kan være, at den paagældende Temperatur i og for sig ikke hæmmer Enzymvirkningen men virker svækkende paa selve Enzymet, der lidt efter lidt gøres uvirksomt eller maaske helt destrueres. Der bliver saaledes ikke blot en kvantitativ men ogsaa en kvalitativ Forskel i den Maade, hvorpaa Temperaturer under og over Optimum influerer paa en Enzymvirkning.

Hvorvidt disse Antagelser holde Stik ogsaa i det her omhandlede Tilfælde, kunne nedenanførte Forsøg maaske give Oplysning om.

Forss. Nr. 1869—1916. Det anvendte Maltudtræk indeholdt pr. 10 Ccm. 18,20 Mgm. Kvælstof, Proteïnopløsningen tilsvarende 30,60 Mgm., ialt altsaa 48,80 Mgm. Totalkvælstof. Forsøgene deltes i 5 Rækker ved henholdsvis 20°, 35°, 50° (47°—50°), 60° og 65°, og Forsøgstiden varieredes da indenfor de enkelte Rækker. I hver af disse anvendtes 42 Ccm. af Proteïnopløsningen og 43 Ccm. Maltudtræk, der begge, før de blandedes (o: ved Forsøgenes Begyndelse), bleve opvarmede til Forsøgstemperaturen. Efter Blanding i 100 Ccm.'s Kolber rystedes de godt sammen og henstode nu nedsænkede i Vandbade ved de

I. Række. 20°.

	Fældning m. Stannochlorid		Fældning m. Garvesyre	
	N i Fil- tratet	Omdan- net N	N i Fil- tratet	Omdan- net. N
	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.
Efter 0 Timer	17,12	0,00	10,00	0,00
— 1/2 —	19,20	2,08	10,52	0,52
— 1 —	22,56	5,44	(11,00)	(1,00)
— 2 —	25,44	8,32	11,48	1,48
— 4 —	33,00	15,88	12,68	2,68

II. Række. 35°.

III. Række. 50°.¹

	Fældn. m. Stannochlorid		Fældn. m. Garvesyre			Fældn. m. Stannochlorid		Fældn. m. Garvesyre	
	N i Filtr.	Omd. N	N i Filtr.	Omd. N		N i Filtr.	Omd. N	N i Filtr.	Omd. N
	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.		Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.
Efter 0 Timer	17,12	0,00	10,00	0,00	Efter 0 Timer	17,12	0,00	10,00	0,00
— 1/2 —	24,64	7,52	11,56	1,56	— 1/2 —	31,68	14,56	12,40	2,40
— 1 —	31,92	14,80	13,08	3,08	— 1 —	37,68	20,56	14,40	4,40
— 2 —	37,20	20,08	15,64	5,64	— 2 —	39,84	22,72	17,20	7,20
— 4 —	39,44	22,32	18,36	8,36	— 4 —	41,04	23,92	20,40	10,40

IV. Række. 60°.

V. Række. 65°.

	Fældn. m. Stannochlorid		Fældn. m. Garvesyre			Fældn. m. Stannochlorid		Fældn. m. Garvesyre	
	N i Filtr.	Omd. N	N i Filtr.	Omd. N		N i Filtr.	Omd. N	N i Filtr.	Omd. N
	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.		Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.
Efter 0 Timer	17,12	0,00	10,00	0,00	Efter 0 Timer	17,12	0,00	10,00	0,00
— 1/2 —	23,20	6,08	11,92	1,92	— 1/2 —	22,72	5,60	10,80	0,80
— 1 —	(34,80) ²	17,68	12,96	2,96	— 1 —	24,00	6,88	11,28	1,28
— 2 —	35,12	18,00	14,08	4,08	— 2 —	25,28	8,16	11,28	1,28
— 4 —	37,04	19,92	15,12	5,12	— 4 —	25,76	8,64	11,44	1,44

¹ Temperaturen varerede her mellem 47° og 50°.² Dette Tal er aabenbart for højt. Men jeg har ogsaa noteret følgende i min Journal: »Temperaturen i Vandbadet paa 60° har ikke været konstant hele Tiden. Fra 0—1/2 Time har den kun været paa 58°—59°, og mellem 1/2 og 1 Time har den en kort Tid endogsaa været nede paa 54°.« Dette vil naturligvis ogsaa have influeret i samme Retning paa de andre Tal i denne Forsøgsrække.

paagjældende Temperaturer. Til forskellige Tider, efter $\frac{1}{2}$, 1, 2 og 4 Timers Forløb, udtoges, efter Omrystning, af hver Kolbe 2×10 Ccm. til Fældning med henholdsvis Stannochlorid og Garvesyre. Der anvendtes saaledes til Fældningen kun den halve Forsøgsvæske af, hvad der ellers benyttedes, og da Kvælstofbestemmelserne udførtes i Halvdelen af Filtraterne, bleve de fundne Tal for Kvælstofmængden multiplicerede med 4 (i Stedet for som ellers med 2). — Resultaterne fremgaa af foranstaaende Tabeller.

Paa Tavle VI og VII ere disse Resultater tillige anskueliggjorte ved Kurver, tegnede henholdsvis med Tiden og Temperaturen som Abscisser og »N i Filtratet» som Ordinator. Hvorfor disse sidste Tal ere valgte i Stedet for dem, der angive, hvor meget Kvælstof der i de paagjældende Forsøgstider har unddraget sig Fældning med de to Fældningsmidler, er for ogsaa at anskueliggjøre disse Fældningskurvers indbyrdes Forhold. Paa Tavlerne er der som Udgangspunkter for Maalingen af de paagjældende Kurver fra 17,12 og 10,00 trukket en punkteret Linje parallel med Abscisseaxen, som angiver, hvor meget Kvælstof der i de passive Forsøg unddrog sig Fældningen med henholdsvis Stannochlorid og Garvesyre.

Ser man først paa Tavle VI, saa synes den tilfulde at bekræfte den forudfattede Antagelse. Kurverne for 20° og 35° vise en fortsat Stigning med Tiden, saa hvis Forsøgene havde været fortsatte tilstrækkeligt længe, vilde de (maaske med Undtagelse af Garvesyre-Kurven for 20°) have naaet samme Højde som Kurverne for 50° . Navnlig er Stigningen af Stannochloridkurven for 20° karakteristisk; Virkningen er her paa det nærmeste proportional med Tiden. Interessant er det at sammenligne Stannochloridkurverne for 35° og 50° . De følges saaledes ad, at den første efter den dobbelte Forsøgstid er naaet op netop paa Højde med den sidste. Begge Kurver for 60° ligge (se Noten paa forrige Side) aabenbart noget for højt, og navnlig gjælder dette for Stannochloridkurven ved 1 Time. Men de ligge dog begge lavere end Kurverne for 35° og have en tydelig Tendens til at gaa parallelt med Abscisseaxen efter 2 Timers Forsøgstid, medens Virkningen i den første halve Time er omtrent den samme som ved 35° . Kurverne for 65° ere særlig interessante. I den første halve Time synes der ikke at være nogen kjendelig Forskjel mellem de tilsvarende Stannochloridkurver for 35° og 60° , men i den næste halve Time er Stigningen af Kurven for 65° kun ringe, endnu svagere fra 1—2 Timer, og fra 2—4 Timer løber den saa

godt som parallelt med Abscisseaxen, eller der sker i den Tid intet mere. For Garvesyrekurven naaes dette Punkt allerede efter 1—2 Timer. Den Virksomhed, som Garvesyrefældningen afdækker (den tryptiske), er altsaa endnu mere følsom for den højere Temperatur end den peptiske, eller Tryptasen destrueres ved 65° fuldstændig i Løbet af en Time, medens Peptasen ikke er helt destrueret endnu efter 2 Timers Forløb.

Kurverne paa Tavle VII anskueliggjør de samme Resultater paa en anden Maade, idet man her lettere overser, hvor vidt Proteolysen er fremskreden ved forskellige Temperaturer efter forskellige Tider. Jeg skal derfor ikke fordybe mig i en nærmere Fortolkning af disse.

Det vilde være interessant at se, om et Maltudtræk, der i 1—2 Timer har været opvarmet til 65°, for bestandig har tabt sin Fermentevne, eller om det kun er lammet saaledes, at det ved lavere Temperaturer kunde blive virksomt igjen. Herover har jeg ingen direkte Forsøg anstillet, men Kjeldahl¹ har undersøgt dette for Diastasens Vedkommende og fundet, at et Maltudtræk, der en Gang har været udsat for en højere Temperatur end Optimum, er svækket saaledes i sin diastatiske Evne — og des mere, jo længere Tid det har været ved den paagjældende Temperatur — at det ikke regenereres ved senere gunstigere Temperaturer. Det er derfor rimeligt, at det forholder sig paa samme Maade med Maltudtrækkets proteolytiske Enzymer, og man har da heri en fuldstændig Parallel til Forholdet hos levende Celler, f. Ex. Bakterier, for hvilke der findes en Maximumstemperatur, hvortil de overhovedet ikke taale at opvarmes, medens de ved kortere eller længere Tids Indvirkning af Temperaturer, som ligge lavere end denne, men over Optimum, ogsaa efterhaanden dræbes².

6. Afhængighed af Tiden ved forskellige Fermentmængder.

Ligesom Tidskurverne blive forskellige efter de Forsøgstemperaturer, der anvendes, og Temperaturkurverne paa samme Maade ere afhængige af Forsøgstiderne, saaledes forandre ogsaa Tidskurverne sig efter Fermentmængderne og omvendt. Spørgsmaalet er nu, om der skal en vis Mængde Enzym til for uafhængigt af Tiden at føre en Reaktion til et bestemt Punkt, f. Ex. at

¹ J. Kjeldahl; Meddelelser fra Carlsberg Laborat. I, 137 (1879).

² Se Schmidt & Weis: Bakterierne p. 130 ff. (1899—1901).

den fuldstændige Omdannelse af Protein kræver en bestemt Mængde af et proteolytisk Ferment, eller om en nok saa ringe Mængde heraf kan føre Omdannelsen ligesaa vidt som en større, naar den blot faar saa meget længere en Tid at virke i, medens paa den anden Side Reaktionen aldrig føres ud over et vist Punkt, selv om Fermentmængden forøges nok saa meget. For at faa Oplysninger om, hvorledes de her omhandlede Enzymer forholde sig i saa Henseende, anstillede jeg følgende Forsøg.

Forss. 1917—1945. Da der kun blev anvendt Stannochlorid som Fældningsmiddel, gjælde Resultaterne kun for Pep-tasen. Forsøgstemperaturen var 51° — 52° . Maltudtrækket indeholdt i 10 Ccm. 18,54 Mgm., Proteinopløsningen (2%) i 10 Ccm. 31,74 Mgm. Kvælstof, hvoraf henholdsvis 12,42 og 1,64 Mgm. unddrog sig Fældning med Stannochlorid. Maltudtrækkets Mængde varierede fra 0, 2, 4, 6, 8 til 10 Ccm., og Forsøgsvæskens Rumfang var altid 20 Ccm., idet der under 10 Ccm. Maltudtræk fortyndedes med det manglende Rumfang Vand. Med Maltudtrækket vekslede altsaa ogsaa Indholdet af Total-Kvælstof (se Tabellen). Forsøgene anstilledes i 3 Rækker paa henholdsvis 1, 2 og 3 Timer og gave følgende Resultater:

31,74 Mgm. Protein-N	Total N	N i Filtraterne				Omdannet N		
		Strax	Efter 1 Time	Efter 2 Timer	Efter 3 Timer	Efter 1 Time	Efter 2 Timer	Efter 3 Timer
	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.
+ 0 Ccm. Maltudtr. m. 0,00 Mgm. N	31,74	1,64	1,64	1,64	1,64	0,00	0,00	0,00
- 2 - - - 3,71 -	35,45	4,12	9,32	10,84	12,00	5,20	6,72	7,88
- 4 - - - 7,40 -	39,14	6,60	18,96	22,04	24,16	12,36	15,44	17,56
- 6 - - - 11,10 -	41,84	9,08	27,68	32,56	34,36	18,60	23,48	25,28
- 8 - - - 14,80 -	46,54	11,56	35,44	38,84	39,68	23,88	27,28	28,12
- 10 - - - 18,54 -	50,28	14,06	42,08	43,28	43,32	28,02	29,22	29,26

Tallene for omdannet Kvælstof (i Milligram) ere paa Tavle VIII a og b direkte opførte som Ordinater med henholdsvis Maltudtrækket (i Kubikcentimeter) og Tiden (i Timer) som Abscisser, hvorved man faar umiddelbare Maal for, hvad samme Mængde Maltudtræk (alias Enzym) kan udrette i forskellige Tider, eller hvor vidt Proteolysen naar ved Anvendelsen af forskellige Mængder Maltudtræk i samme Tid.

Ser man nu først paa Tavle VIII a, finder man Virkningerne i den første Time omtrent proportionale med Enzymmængderne helt op til 10 Ccm., men i den anden Time naaer Proportionaliteten ikke videre

end til 6 Ccm., og det samme er omtrent Tilfældet i den tredie Time. Maximum for Virkning er med 10 Ccm. næsten naaet i Løbet af den første Time, og der naaes ikke videre i 3 end i 2 Timer, fordi der ikke er mere Æggehvdestof at omdanne. Med 8 Ccm. Maltudtræk er der i 3 Timer omdannet netop den samme Mængde Kvælstof som med 10 Ccm. i 1 Time. — Tavle VIII b viser, at Virkningen for alle Enzymmængderne er langt større i den første end i den anden og tredie Time, og at dette for de smaa Enzymmængders (2 og 4 Ccm.) Vedkommende ikke kan have sin Aarsag i Mangel paa Gæringsmateriale. Kun med 10 og 8 Ccm. kan Reaktionen siges at være ført til Ende i Løbet af de 3 Timer (med 10 Ccm. allerede efter 2 Timer), med 6 Ccm. er der kun et lille Stykke tilbage, med 4 Ccm. kunde den muligvis fuldendes i Løbet af 4—5 Timer, men med 2 Ccm. vilde der gaa meget længere Tid, om man her overhovedet naaede til Enden.

Skulde man nu ved Hjælp af disse Forsøgsresultater besvare de pag. 65—66 stillede Spørgsmaal, vil man strax beklage, at Forsøgstiderne ikke have været udstrakte længere. Ganske vist ser man, at en større Fermentmængde (10 Ccm.) indenfor en given Tid ikke fører Omdannelsen videre end en mindre (8 Ccm.), men hvor vidt de mindre Fermentmængder (2 og 4 Ccm.) ogsaa kunde have ført Reaktionen til samme Punkt, derpaa give Forsøgene ikke direkte Svar. Havde jeg arbejdet med en stærkere Koncentration af Proteïn (sml. Forss. p. 69), vilde mine Kurver rimeligvis i Hovedsagen have faaet samme Form men kun være blevne forskudte noget opad for de større Enzymmængders Vedkommende. De vilde rimeligvis have faaet et lignende Forløb som de Kurver, Kjeldahl har fundet for forskellige Diastasemængders Virkninger i forskellige Tider¹, dog næppe med saa stor Tilbøjelighed til at løbe parallelt med Abscisseaxen indenfor de anvendte Forsøgstider, skjønt mine Forsøg strække sig over 3 Gange saa lang en Tid som Kjeldahls. (Sml. f. Ex. Forss. i næste Afsnit med 10 Ccm. Maltudtræks Indvirkning paa en 5% Proteïnopløsning i indtil 48 Timer.)

7. Afhængighed af Tiden ved forskellige Proteïnkonzentrationer.

Det viste sig under flere af de i det foregaaende nævnte Forsøg, bl. a. dem, hvor Tidens Indflydelse paa Proteolysen under-

¹ Se Meddel. fra Carlsberg Laboratoriet I, 145 (1879).

søgte ved Hjælp af forskellige Fældningsmidler (VI. Række, Forss. 1711—1776, se pag. 58 ff.), at man forholdsvis hurtigt eller i hvert Fald efter nogle faa Timer naaede Maximum af Virkning for den Fase i Proteolysen (Albumosedannelsen, Peptasens Virkning), der kunde bestemmes ved Fældning med Stannochlorid. Der blev da snart kun en ganske ringe Mængde upaavirket Kvælstof tilbage, der saa godt som altsammen kunde hidrøre fra selve Maltudtrækkets Indhold af Æggehvdestoffer, medens (næsten) alt Proteinet var omdannet. Det Spørgsmaal trængte sig da paa, hvorledes Forholdet vilde blive, naar man arbejdede med stærkere Koncentrationer af Proteïn, om Reaktionen da kunde føres forholdsvis (procentisk) lige saa vidt, eller om den vilde standse ved et bestemt Punkt, uanset, hvor meget upaavirket Proteïn der maatte være tilbage i Forsøgsvæsken, eller om en vis Mængde Maltudtræk (Enzym) i en bestemt Tid, inden Reaktionen Maximum var naaet, blot kunde omdanne en bestemt Mængde Æggehvdestof, eller om dets Fermentevne stod i Forhold til hvor meget fermentescibelt Stof der fandtes ved Forsøgets Begyndelse. Og endelig var det af Interesse at faa en Forestilling om, hvor stor den proteolytiske Fermentevne i et Maltudtræk overhovedet kunde være.

Jeg har derfor anstillet en Række Forsøg under saa vidt muligt samme Forsøgsbetingelser som i Forsøgene Nr. 1711—1776 (se p. 58 ff.), kun at jeg benyttede stærkere Koncentrationer ($2\frac{1}{2}$ og 5 %) af Proteinet. Det anvendte Maltudtræk var naturligvis et andet, men da det havde omtrent samme Kvælstofindhold, kan dets Fermentevne ogsaa antages at have været tilnærmelsesvis den samme, saa det er berettiget at stille alle Forsøgene sammen til Jævnføring, som sket i hostaaende Tabel. Til Forklaring af denne maa jeg dog forudskikke nogle Bemærkninger om Forsøgsanstillingen, særlig angaaende Fældningerne og Kvælstofbestemmelserne i disse nye Forsøg.

Forss. 2261—2310. Der blev tilberedt to Opløsninger paa henholdsvis c. 5 og c. 10 % Proteïn i 0,4 procentholdig vandig Mælkesyre. Efter kort Tids Opvarmning paa Vandbad vare begge Opløsninger fuldkommen klare. Ved Blanding med lige Rumfang Maltudtræk bleve Proteïnkonzentrationerne c. $2\frac{1}{2}$ og 5 %. Om disse Opløsningers og Maltudtrækkets Kvælstofindhold, se Tabellen. For at kunne være sikker paa en fuldstændig Udfældning og for ikke at faa altfor store Mængder Kvælstof til Bestemmelserne benyttedes der i Forsøgene kun 5 Ccm. Proteïnopløsning + 5 Ccm. Maltudtræk, der bragtes i 50 Ccm.'s Maalekolber, som vare til-

1 % Protein (Forss. 1711—1776).

Total N i 10 Cem. Maltudtræk 18,84 Mgm.

— — Proteinopl. 31,46 —

Ialt 50,30 Mgm.

2 1/2 % Protein (Forss. 2261—2310).

Total N i 10 Cem. Maltudtræk 19,14 Mgm.

— — Proteinopl. 78,85 —

Ialt 97,99 Mgm.

5 % Protein (Forss. 2261—2310).

Total N i 10 Cem. Maltudtræk 19,14 Mgm.

— — Proteinopl. 144,20 —

Ialt 163,34 Mgm.

Efter Timer	Ni Stannochlorid-Filtr.		N i Garvesyre-Filtr.		Ni Stannochlorid-Filtr.		N i Garvesyre-Filtr.		Ni Stannochlorid-Filtr.		N i Garvesyre-Filtr.	
	Omdan- net N	I % af Total-N	Omdan- net N	I % af Total-N	Omdan- net N	I % af Total-N	Omdan- net N	I % af Total-N	Omdan- net N	I % af Total-N	Omdan- net N	I % af Total-N
	Mgm.	%	Mgm.	%	Mgm.	%	Mgm.	%	Mgm.	%	Mgm.	%
0	15,62	31,1	10,48	20,8	14,44	14,7	9,90	10,1	15,28	9,4	9,90	6,1
1	40,40	80,3	16,96	33,7	57,0	58,2	—	—	62,6	38,3	—	—
2	42,36	84,2	21,16	42,1	68,4	69,8	24,4	24,9	78,7	48,2	26,4	16,2
3	43,76	87,0	23,52	46,8	71,4	72,9	—	—	90,6	55,5	—	—
4	43,72	86,9	24,80	49,3	74,4	75,9	—	—	94,1	57,6	—	—
5	43,76	87,0	25,80	51,3	77,2	78,8	32,4	33,1	96,3	59,0	36,4	22,3
6	44,68	88,8	27,04	53,8	78,6	80,2	—	—	101,6	62,2	—	—
9	45,16	89,8	31,16	61,9	82,6	84,3	—	—	111,6	68,3	—	—
12	45,28	90,0	34,96	69,5	83,4	85,1	46,0	46,9	117,0	71,6	51,0	31,2
24	(45,76)	(91,0)	38,04	75,6	84,8	86,5	56,4	57,6	127,4	78,0	65,8	40,3
48	45,32	90,1	41,08	81,7	86,8	88,6	64,0	65,3	140,0	85,7	83,0	50,8

lukkede med Korkprop under hele Forsøgstiden. Der foretoges Fældninger med Stannochlorid og Garvesyre. Af det første anvendtes 30 Ccm. af den sædvanlige Styrke¹ + 10 Ccm. Calciumchlorid, af Garvesyren 20 Ccm., hvorefter der med Vand (20 Ccm.) fyldtes op til Mærket. Til Kvælstofbestemmelserne anvendtes der af Kontrolprøverne (de strax udfældede) 25 Ccm. af Filtratet, af de aktive Prøver, i hvilke der fandtes omdannet Æggehvidestof, kun 10 Ccm., og de fundne Mængder Kvælstof beregnedes da for 10 Ccm. Proteïnopløsning + 10 Ccm. Maltudtræk ved Multiplikation med henholdsvis 4 og 10. — Forsøgstemperaturen var 50°. Der anvendtes ikke Antiseptika, da baade den høje Temperatur og Mælkesyren vare hindrende for Bakteriers Trivsel. Efter 48 Timer lugtede Forsøgsvæsken ogsaa ganske friskt og frembød intet Tegn paa at være inficeret.

For at udelukke enhver Tvivl om, at det virkelig var Enzymvirkninger og ikke en Indvirkning af Mælkesyren paa Proteïnet (ved Dannelsen af Syntoniner o. l.), der forandrede dets Forhold overfor Fældningsmidlerne, særlig Stannochlorid, anstilledes et Par blinde Forsøg, i hvilke 5 Ccm. af hver Proteïnopløsning henstode med 5 Ccm. Vand i Stedet for med Maltudtræk i 24 Timer ved 50°. Kvælstofbestemmelser i 25 Ccm. af Filtraterne (ialt 50 Ccm.) fra Stannochloridfældningen gave følgende Værdier:

	N i Filtratet	
	Strax	Efter 24 Timer ved 50°
2½ % Proteïnopl.	1,28 Mgm.	1,08 Mgm.
5 % —	2,20 —	1,76 —

De i Tabellen (p. 69) anførte Resultater vare for mig i højeste Grad overraskende og ville maaske ogsaa være det for andre. Thi at der i spirende Byg findes Enzymer med saa mægtige proteolytiske Egenskaber, gjør det næsten uforstaaeligt, at de saa længe have kunnet undgaa Forskernes Opmærksomhed, tilmed da denne store Fermentevne ikke alene tilkommer det peptiske men ogsaa det tryptiske Enzym. I Forsøgene med 5 % Proteïn er der jo i Virkeligheden foregaaet en saa intensiv Stofomsætning, at den saavel i kvantitativ som i kvalitativ Henseende næppe staar tilbage for

¹ Schjærning (Zeitschr. für anal. Chemie XXXV, 287 og XXXVI, 651) regner, at 1 Mgm. Kvælstof fordrer c. 1 Ccm. Stannochlorid til Udfældning. I saa Tilfælde vilde 30 Ccm. ikke slaa til i alle mine Prøver. Men Forholdet er dette, at det upaavirkede Proteïn ligefrem fældes af Stannochloridopløsningens stærke Saltsyre, hvori det er uopløseligt. Og denne Udfældning foregaar med visse Mængder Stannochlorid kvantitativt.

den livligst forløbende Gjæring af Sukker til Alkohol og Kulsyre. Kun fordi Proteolysen ikke er ledsaget af en synlig Luftudvikling eller Dannelsen af lugtende Stoffer, giver den sig ikke som hin umiddelbart tilkjende; først Fældninger og derpaa følgende Kvælstofbestemmelser i Bundfald eller Filtrater — hvortil der altid medgaar et Par Dage — give Oplysning om, at der overhovedet er sket noget.

Ser man nu nærmere paa Forsøgsresultaterne, faar man lettest en Oversigt over dem, hvor de ere fremstillede grafisk, som paa Tavle IX og X. Af de i Tabellen anførte Tal kan der jo konstrueres talrige Kurvesystemer og uddrages mange Slutninger, men jeg mener dog at burde indskrænke mig til i denne Sammenhæng at gjøre opmærksom paa, hvad der læres af de hosføjede Tavler. Paa den første (Tavle IX) ere Resultaterne udtrykte efter de direkte fundne Tal, idet Ordinaterne angive, hvor meget Kvælstof i Milligram der unddrager sig det paagjældende Fældningsmiddel efter de paa Abscisseaxen afsatte forskellige Forsøgstider, og de vandrette Linier udtrykke Total-Kvælstofmængden i de forskellige Koncentrationer; paa den anden (Tavle X) angive Ordinaterne i Procent, hvor meget af Total-Kvælstofmængden der er omsat efter forskellige Tiders Forløb.

Det ses da, at den Mængde af baade det peptiske og det tryptiske Enzym, der findes i 10 Ccm. Maltudtræk, er i Stand til indenfor de anvendte Forsøgstider at omsætte langt mere Kvælstof end det, der findes i 10 Ccm. 2 Procents Proteïnopløsning + 10 Ccm. Maltudtræk, og at naar Stannochloridkurven i sidste Tilfælde saa hurtigt kommer til at løbe parallelt med Abscisseaxen, er det kun, fordi Gjæringsmaterialet slipper op. Ja, allerede i den første Time er Albumosedannelsen voxende med Koncentrationen af Proteïn udover $2\frac{1}{2}$ 0/0, og det samme er Tilfældet med den aminamiddannende Virksomhed, navnlig efter 2 Timers Forsøgstid, hvor der dog endnu i den 1 procentige Opløsning er saa rigeligt af Albumoser tilstede. Da Stigningen fra $2\frac{1}{2}$ 0/0 til 5 0/0 imidlertid kun er ringe, er det sandsynligt, at en Koncentration, der ligger herimellem, netop vil give Maximum af Virkning. En Sammenligning med tidligere omtalte Forsøg (se pag. 54) taler for, at denne Koncentration vil være c. 3—4 0/0. Efter 48 Timer er Albumosedannelsen i $2\frac{1}{2}$ Procents Opløsningen procentisk ført omtrent lige saa vidt som i 1 Procents Opløsningen, og i 5 0/0 er det ikke langt fra samme Punkt¹. Uden Tvivl vilde en længere

¹ Dette vilde endda træde endnu stærkere frem, om man vilde tegne Kurven for Omdannelsen af Proteïn alene.

Forsøgstid have bragt alle 3 Stannochloridkurver paa Tavle X til at skjære hinanden. — Den dyberegaaende Sønderdeling (den tryptiske Virksomhed) forløber vel i det hele noget langsommere, da det her virkende Enzym formodentlig hovedsagelig benytter de af det andet dannede Albumoser og Peptoner som Gjæringsmateriale¹, men Tallene og Kurverne give dog tydelige Oplysninger om, at Nedbrydningen ogsaa kvantitativt gaar meget vidt. Efter 48 Timers Forløb ser man saaledes, at der i de 3 Koncentrationer er omsat henholdsvis 41,08, 64,0 og 83,0 Mgm. Kvælstof eller 81,7, 65,3 og 50,8 % af Total-Kvælstofmængden til Forbindelser, der ikke fældes af Garvesyre, og en længere Forsøgstid vilde uden Tvivl have bragt endnu højere Tal, da alle Kurverne jo bestandig ere stigende mellem 24 og 48 Timer. — I Proteïnopløsningen paa 5 % løber Stannochlorid- og Garvesyrekurven omtrent parallelt med hinanden gennem hele Forsøgstiden, eller den peptiske og den tryptiske Virksomhed ere foregaaede med omtrent samme Intensitet (og dette tyder stærkt paa, at den sidste er afhængig af den første).

I ingen af Forsøgene er der Tegn paa, at en Ophobning af Gjæringsprodukterne har været synderligt hæmmende for Enzymernes Virksomhed, og naar denne efterhaanden bliver langsommere, kan det alene forklares ved den stedfundne Aftagen i det gjæringsdygtige Materiale. Ganske vist skaffes de af det peptiske Enzym dannede Produkter (Albumoser og Peptoner) efterhaanden af Vejen, idet de nedbrydes videre af det tryptiske Enzym, men længe forinden dette sker i kjendelig Grad, har i Forsøgene med 1 % Proteïn Albumosedannelsen naaet sit Maximum, efter 3—6 Timer, medens der da ikke bliver Tale om nogen yderligere Stigning foraarsaget ved Fjernelsen af mere og mere af Albumoserne. Og hvor der som i Forsøgene med 5 % Proteïn stadig er rigeligt af Gjæringsmateriale for Tryptasen, synes denne ikke at hæmmes i sin Virksomhed ved de efterhaanden rigeligt ophobede Gjæringsprodukter, den selv danner.

Det fremgaar ogsaa af disse Forsøg, sammenholdte med de i forrige Afsnit omtalte, navnlig de, i hvilke der anvendtes 2 Ccm. Maltudtræk, at Proteïnkonzentrationen som saadan spiller en Rolle for Nedbrydningens Omfang. Af de 2 Ccm. Maltudtræk omdannes der i den 1 procentige Proteïnopløsning forholdsvis ikke nær saa

¹ Muligvis er det ogsaa i Stand til selv at danne Albumoser og Peptoner af Æggehvide-stoffer, saaledes som man antager, at det dyriske Trypsin — hvis dette ikke ogsaa er to Enzymer — kan det.

meget som her af 10 Ccm. i den 5 procentige, hvorfor 2 Ccm. i en 5 Procents Opløsning sikkert vilde have omdannet adskilligt mere end i en 1 Procents Opløsning i samme Tid.

Og skjønt baade Proteinkoncentrationen har været høj i Forhold til den anvendte Fermentmængde, og Forsøgstiden har været lang (48 Timer), synes dog ikke det Punkt at være naaet, hvor 10 Ccm. Maltudtræk ikke kunde omdanne mere Kvælstof, naar der blot anvendtes tilstrækkelig Tid, medens den peptiske Nedbrydning ved alle Proteinkoncentrationer i Løbet af de 48 Timer procentisk er ført omtrent til samme Punkt.

8. Afhængighed af fremmede Stoffers Nærværelse.

Det vides om nogle Enzymer, at deres Indvirkning paa de Stoffer, de kunne omdanne, er afhængig af, om et bestemt tredje Stof er tilstede, eller at et saadant i det mindste meget føleligt forhøjer Virkningen. Saaledes fordrer Pepsinet Tilstedeværelsen af en Syre, Løbefermentet og Pektasen et Kalksalt eller lign., og det dyriske Trypsin virker kraftigst ved en svagt alkalisk Reaktion. Det er derfor ved alle Fermentundersøgelser altid et meget vigtigt Spørgsmaal, om Processen er afhængig af et eller andet saadant fremmed Stof, og navnlig, hvorledes og i hvilken Grad Substratets Reaktion influerer paa den.

Arbejder man, som i det foreliggende Tilfælde, med et Maltudtræk, der foruden Enzymer indeholder en Række andre Stoffer, har det naturligvis sin store Interesse at kjende Enzymernes Forhold til disse foruden til saadanne (forskjellige Syrer, Alkohol o. l.), der let dannes »spontan«, under andre Gjæringsprocesser, ved Mikrobers Indvirkning paa Maltudtrækket, eller til saadanne, som man i Praxis, hvor der kan være Tale om den paagjældende Enzymproces' Medvirkning (f. Ex. under Brygning), sætter til (Sukkerarter, Humle-Bitterstoffer osv.). Endvidere er det vigtigt at kjende de almindeligt anvendte Antiseptikas Indflydelse, fordi det ved Studiet af en Enzymvirkning altid gjælder om at udelukke Mikrobernes forstyrrende Indgriben i Processen. Da det er kjendt, at visse Stoffer (Fosfater f. Ex.) have en specifik Virkning paa bestemte Enzymer, ligger det nær at drage ogsaa saadanne med ind i en orienterende Undersøgelse. Og endelig maa man ikke være blind for, at flere Enzymer, der findes i samme Udtræk, gjensidig kunne paavirke (f. Ex. destruere) hinanden, saa der er her en Uendelighed af Spørgsmaal at tage op.

Af denne Uendelighed har jeg valgt nogle faa af de mest nærliggende, idet jeg foreløbig kun har undersøgt nogle Syrers og Basers, Alkohols og enkelte Antiseptikas Indflydelse. Og for de fleste af disse Stoffer have mine Forsøg endda kun strakt sig til deres Indvirkning paa det tryptiske Enzym, idet jeg som oftest kun har benyttet Garvesyre som Fældningsmiddel; i et mindre Antal Tilfælde tillige Stannochlorid.

Mest umiddelbar Interesse vilde det have at vide, hvorledes Proteolysen forløber, naar ingen saadanne Stoffer ere tilstede (hvilket naturligvis er umuligt, saa længe man ikke har fremstillet Enzymerne i ren Tilstand), i hvert Fald ingen Syre eller Base o: ved neutral Reaktion i Substratet. Naar jeg om dette sidste dog ikke har noget direkte Forsøg at anføre, er det, fordi de Æggehvide-stoffer, hvormed jeg har arbejdet, ikke ere opløselige i Vand alene, og jeg har ikke forsøgt, om de ere det i neutrale Saltopløsninger (Kogsalt) el. lign. Kun Autodigestionsforsøgene med Maltudtræk, af hvilke jeg har anstillet en Række uden Til-sætning af Syre, kunne maaske siges at være foregaaede under neutral Reaktion. Men dette er dog et Spørgsmaal, hvorom der kan diskuteres. Som bekjendt reagerer et Maltudtræk stærkt surt paa vore almindelige Indikatorer (Lakmus, Fenoltalein o. fl.) — saaledes at 10 Ccm. af de af mig tilberedte Udtræk i Reglen til Neutralisation fordrede 1,25—3,0 Ccm. $\frac{1}{10}$ normal Natriumhydroxydopløsning — men hvor vidt dette alene skyldes sure Salte, navnlig primære Fosfater, eller fri Syre, derom strides de Folk, der særlig have undersøgt dette Spørgsmaal (f. Ex. Ad. Ott¹ og Eug. Prior²).

Imidlertid give de Forsøg, jeg nedenfor skal anføre, dog Fingerpeg om, hvorvidt neutral Reaktion er gunstig for Proteolysen eller ej, idet jeg altid har faaet en kun meget svag Virkning ved de laveste Syrekonzentrationer, som jeg har kunnet opnaa; og jeg drister mig derfor til at udtale den Formodning, at de paa-gjældende Enzymer kun i meget ringe Grad ere i Stand til at virke paa de af mig undersøgte Æggehvide-stoffer ved neutral Reaktion i Substratet.

Syrer og Baser.

Af Syrer har jeg undersøgt de to organiske, der oftest op-træde og kunne tænkes at spille en Rolle i Praxis (i Bryggeri-teknikken), nemlig Mælkesyre og Eddikesyre. Til Sammenligning

¹ Ad. Ott: Zeitschr. f. d. gesammte Brauwesen XX, 633—36 (1897).

² Eug. Prior: Bayrisches Brauer-Journal VIII Nr. 31—36 (1898).

er valgt et Par uorganiske Syrer, Saltsyre og Svovlsyre, og af Baser et Alkalimetalhydroxyd og et normalt Alkalimetalcarbonat. Jeg er, undtagen for Mælkesyrens Vedkommende, i min Forsøgsanstilling gaaet direkte ud fra Normalvæsker, men da de forskellige Forsøgsrækker ere anstillede med forskellige Maltudtræk, og der i Forsøgene over Baserne tildels endogsaa er benyttet et andet Æggehvidestof, afgive de fundne Tal selvfølgelig ikke noget direkte Maal for det paagjældende Stofs Indflydelse. Som oftest er der til Sammenligning anstillet Forsøg med 0,2 procentholdig vandig Mælkesyre, hvor en anden Syre eller en Base var Objektet.

I nogle Tilfælde har jeg forfulgt Syreforøgelsens Indflydelse paa Maltudtrækkets Selvdigestion, og i Reglen har jeg undersøgt den paagjældende Syres eller Bases Indflydelse paa Proteinet alene, uden Tilsætning af Maltudtræk, idet der da i begge Tilfælde fortyndedes med Vand til 20 Ccm.

Der har, i hvert Fald nedadtil, altid stillet sig naturlige Grænser for, hvilke Syre- og Alkalikoncentrationer jeg kunde experimentere med, idet jeg altid var nødt til først at opløse Æggehvidestoffet i de paagjældende Væsker, og dettes Opløselighed deri derfor blev en medbestemmende Faktor. Som omtalt p. 22 lader Hvedeproteinet (og det samme gjælder Leguminet) sig ikke eller dog kun i meget ringe Grad opløse i Vand alene, og der findes en vis minimal Koncentration af Syre eller Alkali, i hvilken de anvendte 2 % af Proteinet lader sig opløse fuldstændigt. (Forsøg ere dog ogsaa medtagne under denne Minimumsgrænse, hvor Proteinkoncentrationen altsaa har været en ringere). For Mælke- og Eddikesyrens samt for Alkaliernes Vedkommende stiger Proteinets Opløselighed med disse Stoffers Koncentration, men for Saltsyrens og Svovlsyrens Vedkommende aftager den igjen meget hurtigt, naar der er naaet en vis, ganske svag, Syregrad (se p. 22).

I Forsøgene med Mælkesyre blev der tilberedt en 2 Procents Proteïnopløsning i 0,05 procentholdig Mælkesyre, den laveste Koncentration af denne Syre, i hvilken de 2 % Proteïn opløstes fuldstændigt. Ved Fortynding med lige Rumfang Maltudtræk opnaaedes saaledes 0,025 % Mælkesyre. De øvrige Koncentrationer tilvejebragtes ved yderligere at sætte en beregnet Mængde Mælkesyre til Forsøgsvæsken.

Ellers har jeg fremstillet 2 Procents Proteïnopløsninger i en Syre- eller Basekoncentration, der var dobbelt saa stærk som den, der skulde benyttes.

Mælkesyre (Forss. 567—622). Forsøgene bleve anstillede i 2 Rækker med forskellige Maltudtræk, hvoraf i 10 Ccm. hen-

holdsviis 7,96 og 9,10 Mgm. Kvælstof unddrog sig Fældning med Garvesyre. Med det første af disse anstilledes tillige Selvdigestionsforsøg. Forsøgstemperaturen 47° , -tiden 2 Timer. Kun Fældning med Garvesyre.

				Omdannet N			
				i Protein + Maltudtræk		i Maltudtræk	
				I	II	I	
0,0 ‰ = $\frac{1}{\infty}$	normal	Syre	»	Mgm.	»	Mgm.	0,72 Mgm.
0,25 - = $\frac{1}{360}$	—	—	1,98	—	»	—	0,90 —
0,50 - = $\frac{1}{180}$	—	—	5,04	—	»	—	» —
1,00 - = $\frac{1}{90}$	—	—	8,40	—	6,62	—	1,90 —
1,5 - = $\frac{1}{60}$	—	—	»	—	6,74	—	» —
2,0 - = $\frac{1}{45}$	—	—	8,88	—	7,12	—	» —
2,5 - = $\frac{1}{36}$	—	—	»	—	6,46	—	» —
3,0 - = $\frac{1}{30}$	—	—	»	—	6,40	—	» —
3,5 - = $\frac{1}{25,7}$	—	—	»	—	5,84	—	» —
4,0 - = $\frac{1}{22,3}$	—	—	7,04	—	5,64	—	» —
5,0 - = $\frac{1}{18}$	—	—	»	—	»	—	2,80 —
6,0 - = $\frac{1}{15}$	—	—	4,20	—	»	—	» —
8,0 - = $\frac{1}{11,2}$	—	—	3,86	—	»	—	» —
10,0 - = $\frac{1}{9}$	—	—	2,56	—	»	—	1,66 —
15,0 - = $\frac{1}{6}$	—	—	1,52	—	»	—	» —
20,0 - = $\frac{1}{4,5}$	—	—	1,12	—	»	—	0,70 —

10 Ccm. Proteinopløsning + 10 Ccm. Vand med 5 ‰ Mælkesyre, viste efter 2 Timer ved 47° ved Fældning med Garvesyre ingen Forandringer.

Eddikesyre (Forss. 1009—1064). 2 Timer ved 47° . 2 Rækker med to forskellige Maltudtræk, der i 10 Ccm. indeholdt henholdsvis 7,40 og 5,52 Mgm. Kvælstof, som ikke fældedes af Garvesyre.

				Omdannet N			
				i Protein + Maltudtræk			
				I	II	I	
0,15 ‰ = $\frac{1}{400}$	normal	Syre		1,98	Mgm.	»	Mgm.
0,2 - = $\frac{1}{300}$	—	—		3,02	—	»	—
0,3 - = $\frac{1}{200}$	—	—		3,62	—	»	—
0,45 - = $\frac{1}{133}$	—	—		4,80	—	»	—
0,6 - = $\frac{1}{100}$	—	—		6,38	—	»	—
0,9 - = $\frac{1}{66,6}$	—	—		7,76	—	»	—
1,5 - = $\frac{1}{40}$	—	—		8,44	—	7,04	—
3,0 - = $\frac{1}{20}$	—	—		9,80	—	7,68	—
4,5 - = $\frac{1}{13,3}$	—	—		»	—	7,52	—

		Omdannet N	
		i Protein + Maltudtræk	
		I	II
6,0 ‰ = $\frac{1}{10}$ normal	Syre	9,18 Mgm.	7,20 Mgm.
9,0 - = $\frac{1}{6,6}$	— —	» —	6,34 —
12,0 - = $\frac{1}{5}$	— —	» —	5,20 —
18,0 - = $\frac{1}{3,3}$	— —	» —	3,62 —
30,0 - = $\frac{1}{2}$	— —	» —	1,98 —

10 Ccm. Proteinopløsning + 10 Ccm. Vand med 30 ‰ ($\frac{1}{2}$ n) Eddikesyre var uforandret efter 2 Timer ved 47°. I 10 Ccm. Proteinopløsning + 10 Ccm. Maltudtræk med 2 promilleholdig Mælkesyre blev der i samme Forsøgstid omdannet 9,22 Mgm. Kvælstof.

Saltsyre (Forss. 915—930). En Forsøgsrække i 2 Timer ved 47°. Passive Fældninger i 10 Ccm. Maltudtræk + 10 Ccm. Proteinopløsning i forskellige Syrekonzentrationer gave alle samme Resultat: med $\frac{1}{800}$ normal Saltsyre var Titeret paa Natriumhyposulfit efter Overdestillation af Ammoniak i 10 Ccm. $\frac{1}{7}$ normal Svovlsyre 16,28, med $\frac{1}{200}$ n. 16,22, med $\frac{1}{50}$ n. 16,20 og med $\frac{1}{50}$ n. (o: 0,2 ‰) Mælkesyre 16,22 Ccm., altsaa det samme; 6,40 Mgm. Kvælstof unddrog sig Fældning med Garvesyre.

		Omdannet N	
		i Protein + Maltudtræk	
$\frac{1}{2000}$ normal	Syre = 0,018 ‰ HCl.	0,92 Mgm.	
$\frac{1}{800}$	— — = 0,045 - —	1,08 —	
$\frac{1}{400}$	— — = 0,09 - —	1,84 —	
$\frac{1}{200}$	— — = 0,18 - —	5,24 —	
$\frac{1}{100}$	— — = 0,36 - —	8,66 —	
$\frac{1}{50}$	— — = 0,72 - —	2,96 —	
$\frac{1}{20}$	— — = 1,80 - —	0,52 —	

I et Parallelforsøg med 2 procentholdig Mælkesyre omdannedes i samme Tid 8,12 Mgm. Kvælstof.

Svovlsyre (Forss. 1065—1086). Det anvendte Maltudtræk indeholdt i 10 Ccm. 5,42 Mgm. Kvælstof, som ikke fældedes med Garvesyre.

		Omdannet N	
		i Protein + Maltudtræk	
$\frac{1}{2000}$ normal	Syre = 0,024 ‰ H_2SO_4 . . .	0,94 Mgm.	
$\frac{1}{800}$	— — = 0,06 - — . . .	1,38 —	
$\frac{1}{400}$	— — = 0,12 - — . . .	2,10 —	
$\frac{1}{200}$	— — = 0,24 - — . . .	4,42 —	

						Omdannet N
						i Protein + Maltudtræk
$\frac{1}{150}$ normal Syre	=	0,33	‰	H_2SO_4		5,48 Mgm.
$\frac{1}{100}$	—	—	=	0,49	- — ...	7,14 —
$\frac{1}{75}$	—	—	=	0,65	- — ...	5,10 —
$\frac{1}{50}$	—	—	=	0,98	- — ...	0,06 —

Natriumhydroxyd. Hermed er der anstillet flere Forsøgsrækker til forskellige Tider og derfor med forskellige Maltudtræk. Forsøgsanstillingen var ogsaa ret forskjellig i de enkelte Rækker, saa jeg maa behandle hver af disse for sig.

I. Række (Forss. 1103—1119). Det anvendte Maltudtræk indeholdt i 10 Ccm. 7,86 Mgm. Kvælstof, som ikke fældedes af Garvesyre. Dets Aciditet (α: Indhold af sure Salte + mulige frie Syrer) bestemtes ved Titring med $\frac{1}{10}$ n. Natriumhydroxydopløsning med Lakmus og Gorkuma-Papir som Indikatorer. Fraset denne Metodes Værdi til Bestemmelsen af virkelig fri Syre, giver den, som her anvendt, dog et relativt Maal for Aciditeten. 10 Ccm. Maltudtræk krævede til Neutralisation $\left\{ \begin{smallmatrix} 2,04 \\ 2,02 \end{smallmatrix} \right\} = 2,03$ Ccm. $\frac{1}{10}$ n. Natriumhydroxydopløsning. Der tilberedtes da Natriumhydroxydopløsninger, som indeholdt:

- 1) 20 Ccm. $\frac{1}{10}$ n. NaOH pr. 100 Ccm. = $\frac{1}{50}$ n. NaOH
- 2) 21 — — — — — " "
- 3) 22 — — — — — " "
- 4) 23 — — — — — " "
- 5) 24 — — — — — " "
- 6) 25 — — — — — = $\frac{1}{40}$ n. NaOH

I 25 Ccm. af hver af disse opløstes 0,5 Gr. Protein i Kulden (Henstand i Isskab). 10 Ccm. af disse Opløsninger (med Undtagelse af den første) skulde nu foruden at neutralisere 10 Ccm. af Maltudtrækket indeholde et lille Overskud af frit Alkali. Blandingerne viste da ogsaa alle alkalisk Reaktion paa Lakmus og Gorkumapapir.

10 Ccm. af samme Maltudtræk omdannede af 10 Ccm. Proteinopløsning i 0,2 procentholdig Mælkesyre i 2 Timer ved 47° 8,18 Mgm. Kvælstof saaledes, at de ikke fældedes af Garvesyre. Efter samme Forsøgstid gav Prøverne:

						Omdannet N
med 20 Ccm. $\frac{1}{10}$ NaOH pr. 100 Ccm.		0,47	Mgm.			
— 21 — — — — —		0,44	—			
— 22 — — — — —		0,96	—			
— 24 — — — — —		0,40	—			
— 25 — — — — —		0,58	—			

II. Række (Forss. 1669—1710). Det her anvendte Maltudtræk blev neutraliseret (men paa anden Maade end det foregaaende), før det toges i Brug. Paa Grund af en særegen Fremstillingsmaade (Digestion af 700 Gr. Malt først med 700 Gr. Vand og efter Filtration Dagen efter igjen med 230 Gr. Vand; de to Filtrater blandedes) var det meget rigt paa Kvælstof, idet det indeholdt før Neutraliseringen 23,84 Mgm. pr. 10 Ccm., hvoraf 12,08 unddrog sig Fældning med Garvesyre. Til Neutralisationen anvendtes som Indikator Fenoltaleïn, overfor hvilken primære Fosfater reagere surt, sekundære alkalisk. Efter at det var fundet, at 10 Ccm. Maltudtræk krævede 2,85 Ccm. $\frac{1}{10}$ n. Natriumhydroxyd, før Fenoltaleïnet gav et netop kjendeligt rødt Skær, neutraliseredes der med $\frac{2}{1}$ n. Natriumhydroxyd for at undgaa for stærk Fortynding, idet der heraf til 300 Ccm. Maltudtræk sattes 4,25 Ccm. En udtagen Prøve af Maltudtrækket gav nu netop det rødlig Skær med Fenoltaleïn, men sattes yderligere en Draabe $\frac{1}{10}$ n. Natriumhydroxyd til, fik Væsken en stærk rød Farve. Ved Neutralisationen udfældedes et voluminøst Bundfald, der filtreredes fra og senere digereredes med svagt mælkesurt Vand (c. 2 ‰ Mælkesyre), for at man i særlige Forsøg kunde undersøge, om dette Bundfald skulde være i Besiddelse af proteolytisk Fermentevne. Det neutraliserede Maltudtræk indeholdt i 10 Ccm. 23,12 Mgm. Total-Kvælstof, hvoraf 11,76 Mgm. unddrog sig Fældning med Garvesyre.

Der viste sig nu Vanskeligheder ved Anvendelsen af Hvedeproteïnet, da det kun i ringe Grad var opløseligt i de svage Koncentrationer af Alkali, som det var ønskeligt at undersøge. Det tilstræbtes nemlig at anvende saadanne Koncentrationer, der vare ækvivalente med de tilsvarende af uorganiske Syrer, Saltsyre og Svovlsyre, som vare undersøgte i tidligere Forsøg (se p. 77). Jeg valgte derfor et andet Æggehvidestof, Legumin, der viste sig at være noget lettere opløseligt, og om hvilket jeg fra en særlig Forsøgsrække (se Afsn. IV, 3) vidste, at det meget kraftigt lod sig paavirke af Maltudtrækket i sur Opløsning. Der tilberedtes forskellige 2 procentholdige Leguminopløsninger i Natriumhydroxydopløsninger af forskjellig Styrke, nemlig $\frac{1}{800}$, $\frac{1}{400}$, $\frac{1}{200}$, $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{75}$, $\frac{1}{50}$, $\frac{1}{20}$ og $\frac{1}{10}$ normal. For at fremme Opløsningen opvarmedes der 1 Time paa Vandbad. I de 6 første Koncentrationer opløste Leguminet sig ikke fuldstændigt, saa Opløsningernes Indhold af Kvælstof blev noget mindre end de følgende, men dog stigende med Koncentrationerne af Natriumhydroxyd. Det uopløste filtreredes fra. I $\frac{1}{20}$ og $\frac{1}{10}$ normal Natriumhydroxyd vare Opløsningerne fuldstændige, og disse tillige med Prøven i $\frac{1}{50}$ normal havde en gullig Farve. Ved

Blanding med lige Rumfang Maltudtræk blev Koncentrationerne af Natriumhydroxyd kun de halve, nemlig $\frac{1}{1600}$, $\frac{1}{800}$ normal osv. — Til Sammenligning anstilledes Forsøg med det neutraliserede Maltudtræks Indvirkning paa en mælkesur Leguminopløsning (2 ‰ Mælkesyre), men Blandingen af de to Væsker fremkaldte en delvis Udfældning af Leguminet. — Som Fældningsmiddel anvendtes kun Garvesyre. Passive Fældninger foretoges i lige Rumfang (10 Ccm.) af Maltudtræk og 1) Legumin med 0,2 procentholdig Mælkesyre, 2) Legumin med $\frac{1}{800}$ normal Natriumhydroxyd og 3) Legumin med $\frac{1}{200}$ normal Natriumhydroxyd, hvilket gav henholdsvis 11,54, 11,08 og 10,84 Mgm. Kvælstof i Filtraterne. Forsøgene anstilledes ved 47°, varede 2 Timer og gave følgende Resultater:

							Omdannet N
10 Ccm. Mu.	+	10 Ccm. Legumin	med	2 ‰ Mælkes.	gav	12,44 Mgm.	
—	—	—	—	—	$\frac{1}{1600}$ n. NaOH	-	1,28 —
—	—	—	—	—	$\frac{1}{800}$	—	- 1,48 —
—	—	—	—	—	$\frac{1}{400}$	—	- 1,58 —
—	—	—	—	—	$\frac{1}{200}$	—	- 1,60 —
—	—	—	—	—	$\frac{1}{150}$	—	- 1,54 —
—	—	—	—	—	$\frac{1}{100}$	—	- 1,16 —
—	—	—	—	—	$\frac{1}{40}$	—	- (6,72) —
—	—	—	—	—	$\frac{1}{20}$	—	- (12,80) —

Tallene for omdannet Kvælstof ere fundne ved at trække Middeltallet af de to ovennævnte passive Fældninger, 10,96, fra de Kvælstofmængder, der ere fundne i Filtraterne fra de aktive Prøver, og naar de i de to sidste Forsøg med $\frac{1}{40}$ og $\frac{1}{20}$ normal Natriumhydroxyd ere blevne saa høje, kommer dette rimeligvis af, at Leguminet allerede ved Opvarmningen, før det toges i Anvendelse, er bleven saaledes omdannet af de høje Alkalikoncentrationer, at en stor Del af det unddrager sig Fældning med Garvesyre. Sandsynligvis har der her slet ikke fundet nogen Enzymvirkning Sted, men der kan herom intet udledes af disse Forsøg. De øvrige Forsøgsresultater vise tydeligt nok en meget stærk Svækkelse, om ikke en fuldstændig Ophævelse, af Fermentevnen ved Nærværelsen af ringe Mængder frit Alkali, og for at komme til Klarhed over, af hvilken Art denne Indvirkning er, om Natriumhydroxydet destruerer Enzymet eller blot er til Hinder for, at det kan virke, anstilledes med samme Maltudtræk følgende Forsøg:

1) Med det ikke neutraliserede Maltudtræk, der indeholdt 23,84 Mgm. Total-Kvælstof og bragtes til at indvirke paa

en mælkesur Leguminopløsning, hvorved der i 2 Timer ved 47° omdannedes 18,28 Mgm. Kvælstof.

2) Med et Maltudtræk, der kun forbigaaende neutraliseredes (med Fenoltalein som Indikator) med Natriumhydroxyd til svagt alkalisk Reaktion, men strax efter gjordes sur igjen med saa megen Mælkesyre, som svarede til den tilsatte Mængde Natriumhydroxyd. Dette omdannede af en mælkesur Leguminopløsning 15,58 Mgm. Kvælstof.

3) Med et Maltudtræk, der var neutraliseret Dagen forud og i Mellemtiden havde henstaaet i Isskabet, hvorefter der blev tilsat saa megen Mælkesyre, som svarede til den tilsatte Mængde Natriumhydroxyd. Ved Indvirkning paa en mælkesur Leguminopløsning omdannede dette 11,44 Mgm. Kvælstof.

4) Med det mælkesure Udtræk af det ved Neutralisation af Maltudtrækket dannede Bundfald (se p. 79). Der fandtes i 10 Ccm. af dette Udtræk 2,25 Mgm. Total-Kvælstof. Ved Indvirkning paa en mælkesur Leguminopløsning omdannede det 1,00 Mgm. Kvælstof.

Disse Forsøg vise, at en rent forbigaaende Neutralisation af et Maltudtræk vel svækker, men dog langt fra ophæver dets tryptiske Fermentevne, at et Døgns Henstand ved neutral Reaktion vel bevirker en yderligere Nedgang i Fermentevnen, men at denne dog endnu er betydelig, naar der igjen tilvejebringes sur Reaktion, og at det ved Neutralisationen udfældede Bundfald, der hovedsagelig bestaar af Fosfater, river noget med sig, der har en ganske svag Fermentevne, hvilket altsaa ogsaa bidrager til at hidføre den ved Neutralisationen fremkaldte Svækkelse i Maltudtrækkets Fermentevne.

III. Række (Forss. 2091—2099, 2109—2122, 2135—2144). Maltudtrækket blev neutraliseret paa samme Maade som i foregaaende Række med Fenoltalein som Indikator. Ved en foreløbig Prøve krævedes der for at fremkalde det rødlig Skjær i 10 Ccm. $\left\{ \begin{smallmatrix} 3,08 \\ 3,00 \end{smallmatrix} \right\}$ Ccm. $\frac{1}{10}$ normal Natriumhydroxydopløsning, hvorefter der til 300 Ccm. Maltudtræk sattes 9 Ccm. $\frac{1}{1}$ n. Natriumhydroxyd. Det herved fældede Bundfald filtreredes fra, og det neutraliserede Udtræk indeholdt nu i 10 Ccm. 18,66 Mgm. Total-Kvælstof. De anvendte Leguminopløsninger tilberedtes i Kulden Dagen forud, men opvarmedes før Forsøget 1 Time paa kogende Vandbad. Det lykkedes at faa Leguminet noget fuldstændigere opløst end i forrige Række, kun i $\frac{1}{500}$ og $\frac{1}{200}$ normal Natriumhydroxyd bleve kjendelige Mængder, i $\frac{1}{100}$ normal et Spor uopløst tilbage¹. Alle disse

¹ Naar Opløseligheden var saa forskjellig fra forrige Række, kan det forklares ved, at det her var et andet Leguminpræparat, der anvendtes.

Fr. Weis: Proteol. Enzymer.

Prøver filtreredes før Brugen. Der anvendtes kun Opløsninger i $1/500$, $1/200$, $1/100$, $1/50$ og $1/25$ n. Natriumhydroxydopløsning, der ved Blanding med lige Rumfang neutraliseret Maltudtræk altsaa kun bleve halvt saa stærke ($1/1000$, $1/400$ normal osv.).

Følgende Bestemmelser gjordes før Forsøgene (passive Prøver):

10 Ccm. Legumin i $1/500$ n. Natriumhydroxyd + 10 Ccm. Maltudtræk (hvorved altsaa Alkalikoncentrationen blev $1/1000$ normal) gav fældet med Stannochlorid 15,50, fældet med Garvesyre 9,48 Mgm. Kvælstof i Filtratet.

10 Ccm. Legumin i $1/100$ Natriumhydroxyd indeholdt 31,84 Mgm. Total-Kvælstof og gav fældet med henholdsvis Stannochlorid 15,12 og Garvesyre 9,32 Mgm. Kvælstof i Filtraterne.

10 Ccm. Legumin i 0,4 procentholdig Mælkesyre + 10 Ccm. neutraliseret Maltudtræk gav fældet med henholdsvis Stannochlorid 15,72 og Garvesyre 10,00 Mgm. Kvælstof i Filtratet.

Samme Leguminopløsning + 10 Ccm. ikke neutraliseret Maltudtræk (hvortil der dog var sat ligesaa stort et Rumfang Vand, som der var sat Alkali til det neutraliserede) gav med Stannochlorid 17,32, med Garvesyre 10,40 Mgm. Kvælstof i Filtratet.

De aktive Forsøg, der anstilledes ved 50^0 i 2 Timer, gave følgende Resultater:

					Omdannet N i Filtratet fra	
					Stannochlorid	Garvesyre
Neutral. Mu. + Leg. i	$1/1000$	n. NaOH	2,17	Mgm.	2,36	Mgm.
— — —	$1/400$	—	4,89	—	2,36	—
— — —	$1/200$	—	5,55	—	1,96	—
— — —	$1/100$	—	4,45	—	1,52	—
— — —	$1/50$	—	3,73	—	0,44	—
— — —	i 2 ‰	Mælkesyre	9,02	—	7,30	—
Ikke neutral. Mu.	—	—	18,08	—	17,10	—

Normalt Natriumcarbonat (Na_2CO_3). (Forss. 2100—2108, 2123—2134, 2145—46). Disse Forsøg anstilledes med samme Maltudtræk og jævnsides med III. Forsøgsrække over Natriumhydroxyd. Leguminopløsninger tilberedtes ogsaa paa samme Maade, kun med den Forskjel, at Opløsningsmidlet var normalt Natriumcarbonat. Her gik jeg ud fra en $1/10$ Normalopløsning = 0,53 ‰, der med salpetersurt Sølvilte gav et gulligt Bundfald, der var ganske frit for brunlig Tone og altsaa ikke indeholdt noget frit Natriumhydroxyd. For at undersøge, om Opløsningen indeholdt noget Natriumbicarbonat (NaHCO_3), sattes til 10 Ccm. af den henholdsvis 2, 3 og 4 Draaber $1/10$ normal Natriumhydroxydopløsning og derefter en Draabe Sølvnitratopløsning. Den brune Farve af Sølvilte kom da først frem i

Prøven med 3 Draaber Natriumhydroxyd, i den med 2 Draaber var Sølvbundfaldet derimod ganske frit for brunlig Tone. Regnes 10 Ccm. til 200 Draaber, findes der altsaa kun c. 1 % Natriumbicarbonat i Opløsningen. — Koncentrationerne vare de samme som i Forsøgene med Natriumhydroxyd, nemlig $\frac{1}{500}$, $\frac{1}{200}$, $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{50}$, $\frac{1}{25}$ og $\frac{1}{10}$ normal Natriumcarbonat, der ved Fortynding med Maltudtræk altsaa kun bleve halvt saa stærke ($\frac{1}{1000}$, $\frac{1}{400}$, $\frac{1}{200}$ osv.). Leguminet var en Kjende mere opløseligt heri end i Natriumhydroxyd.

Før Forsøgene fandtes (i de passive Prøver):

I 10 Ccm. Legumin i $\frac{1}{500}$ n. Na_2CO_3 + 10 Maltudtræk ved Fældning med Stannochlorid 15,10, med Garvesyre 9,36 Mgm. Kvælstof i Filtratet.

10 Ccm. i $\frac{1}{100}$ n. Na_2CO_3 indeholdt 31,20 Mgm. Total N

— $\frac{1}{10}$ — — — 33,36 — —

10 Ccm. Legumin i $\frac{1}{100}$ n. Natriumcarbonat + 10 Ccm. Maltudtræk gav med Stannochlorid 15,04, med Garvesyre 9,40 Mgm. Kvælstof i Filtratet. De tilsvarende Prøver med $\frac{1}{10}$ n. Natriumcarbonat henholdsvis 16,00 og 8,60 Mgm. Kvælstof. (Jfr. Tallene for $\frac{1}{10}$ n. Natriumhydroxyd, p. 82).

Om Parallelforsøgene med mælkesur Leguminopløsning se p. 82.

De aktive Forsøg i 2 Timer ved 50° gave:

					Omdannet N i Filtratet fra	
					Stannochlorid	Garvesyre
Mu. + Leg.	i $\frac{1}{1000}$	n. Na_2CO_3		3,65 Mgm.	1,98 Mgm.	
—	—	$\frac{1}{400}$	—	 5,13	—	1,94 —
—	—	$\frac{1}{200}$	—	 4,41	—	1,62 —
—	—	$\frac{1}{100}$	—	 4,21	—	1,18 —
—	—	$\frac{1}{50}$	—	 4,03	—	0,38 —

Resultaterne af de her omtalte Forsøg over Syrers og Basers Indflydelse paa Proteolysen ere i deres Hovedtræk anskueliggjorte ved Kurverne paa Tavle XI. Her angive Abscisserne Koncentrationerne af de forskellige Stoffer, udtrykte i Normalvæsker (Tusindedele Gramæquivalenter pr. Liter), og Ordinaterne den Mængde Kvælstof i Milligram, der i Forsøgstiden, 2 Timer, og ved Optimumstemperaturen, 47°, har unddraget sig Fældning med Garvesyre. Lignende Kurver vilde kunne trækkes for den Virksomhed, der afdækkes ved Stannochloridfældningen, men mine Forsøg have jo kun undtagelsesvis strakt sig hertil. — Det bør dog betones, som ogsaa allerede tidligere sket, at de paa Tavle XI

sammenstillede Kurver for saa vidt ikke ere direkte sammenlignelige, som de ere Resultater af Forsøg med indbyrdes forskellige Maltudtræk og tildels med forskellige Æggehvide-stoffer, saa man navnlig ikke ud derfra, at en Kurve ligger højere end en anden, kan slutte, at den paagældende Syre ogsaa har været gunstigere for Proteolysen end den anden.

Ser man nu paa Kurvernes Forløb, saa finder man en vis parvis Overensstemmelse mellem de to uorganiske Syre paa den ene Side og de to organiske paa den anden og Parallelitet mellem de to Alkaliers Indvirkning. Paafaldende for de første to Kurver ere de store Variationer i Virkningen fremkaldt ved ubetydelige Variationer i Aciditeten. Man vil se, at en mindre omhyggelig Forsøgsanstilling let vilde komme til ganske at overse disse Syrers Indflydelse. Optimum for dem begge synes at være naaet, naar der er tilsat en Syremængde svarende til en Syregrad af den hele Forsøgsvæske af c. $\frac{1}{100}$ normal eller for Saltsyrens Vedkommende ved c. 0,36 ‰, for Svovlsyrens ved c. 0,49 ‰ eller knapt $\frac{1}{2}$ Promille (jfr. Pepsinets Forhold til Saltsyre, hvor Optimum angives til 2–4 Promille). Ved en Syregrad af $\frac{1}{20}$ normal (= 1,8 ‰) for Saltsyrens, af $\frac{1}{50}$ normal (= c. 1 ‰) for Svovlsyrens Vedkommende er enhver Virkning ophørt.

De to organiske Syrers Optimum synes at ligge ved c. $\frac{1}{50}$ og $\frac{1}{20}$ normal eller henholdsvis 2 og 3 ‰, for Eddikesyrens Vedkommende uden synderlig Variation mellem 2 og 6 ‰. Men af disse Stoffer taales forholdsvis høje Koncentrationer, saaledes at der endnu ved $\frac{1}{4,5}$ normal (= 20 ‰) for Mælkesyrens Vedkommende og $\frac{1}{2}$ normal (= 30 ‰) for Eddikesyrens Vedkommende er en kjendelig proteolytisk Virksomhed. De sidste Afsnit af Kurverne have ikke faaet Plads paa Tavlerne, men ville let kunne konstrueres i mindre Maalestok efter Tallene i Tabellerne.

For alle fire Kurver er den stejle Stigning op til $\frac{1}{100}$ normal Syre, hvor til de saa at sige alle følges ad, særlig karakteristisk.

De to Alkalier synes kun at have haft en med Koncentrationen stigende hæmmende Indflydelse paa den tryptiske Virksomhed. Ved de svageste Koncentrationer kan Enzymet endnu virke ganske svagt, men allerede ved $\frac{1}{50}$ normal er Proteolysen helt standset. Ved den Virksomhed, der afdækkes af Stannoehlorid-fældningen, synes der dog at være en ringe Stigning fra $\frac{1}{1000}$ til $\frac{1}{400}$ normal Alkali (se Tabellerne p. 82 og 83), og skjønt der herfra ikke foregaar nogen yderligere Stigning, sker der dog heller ikke noget brat Fald, men Kurverne vilde løbe omtrent parallelt med Abscisseaksen indtil c. $\frac{1}{50}$ normal. Alt i alt maa man af de an-

førte Forsøg uddrage den Slutning, at alkalisk Reaktion virker hæmmende paa den tryptiske Nedbrydning af de to undersøgte Æggehvidestoffer (Hvedeprotein og Legumin). — Hvorvidt den fremmer Proteolysen af dyriske Æggehvidestoffer (Gelatine), som Windisch & Schellhorn¹ have paastaet, skal jeg ikke udtale mig om. I et enkelt Tilfælde (Indvirkning paa Oxefibrin i 0,135 procentholdig (c. $\frac{1}{40}$ normal) Natriumcarbonatopløsning, som jeg har undersøgt), viste der sig selv efter 24 Timer saa godt som ingen hverken peptisk eller tryptisk Omdannelse, men man har naturligvis ikke Lov til at generalisere fra et saadant enkelt Forsøg ved kun 1 bestemt Alkalikoncentration (se forøvrigt Afsn. IV, 3). —

Skjönt der synes at være en mærkelig stor indbyrdes Forskel mellem de to organiske og de to uorganiske Syrers Indvirkning paa Proteolysen, navnlig efter at Optimum for Virkningen er naaet, er det dog vist muligt at give en simpel Forklaring herpaa, der samtidig forklarer Alkaliernes Virkemaade, saaledes som Fernbach & Hubert² have gjort det i deres tidligere omtalte korte Meddelelse i »Comptes rendus«. Desværre give de to Forfattere slet ingen Tal for deres Forsøgsresultater og ingen nærmere Oplysninger om deres Forsøgsanstilling, men fremsætte kun omtrent følgende Paastande: »Naar et Maltudtræk virker fermentativt enten i sukkerdannende eller proteolytisk Retning, er det dets Indhold af primære Fosfater, som fremskynder disse Virkninger, medens de sekundære Fosfater hæmme dem. Nu indeholder et i Kulden tilberedt Maltudtræk altid en Blanding af begge disse Fosfater, »or la réaction de l'extrait du malt, acide à la phtaléine, alcaline au méthylorange est celle qu'aurait un mélange de phosphates primaire et secondaire d'un métal alcalin«. Tilføjelse af Syrer og Alkalier virker nu ved at omdanne henholdsvis sekundære Fosfater til primære og omvendt, og af den Grund virke de første fremmende indtil en vis Grænse, de sidste altid hæmmende. Men Syrernes gavnlige Indflydelse strækker sig kun til det Punkt, da alt sekundært Fosfat er omdannet til primært $\therefore$ indtil Reaktionen paa Methylorange er bleven neutral. Hvad der sættes til (af fri Syre) herudover, virker igjen hæmmende paa Enzymerne. Tilsætning af Alkalier vil saaledes heller ikke fuldstændig ophæve al Enzymvirkning, saalænge der endnu findes primære Fosfater tilstede, men dog strax virke skadeligt ved at omdanne disse til sekundære

¹ Windisch & Schellhorn: Wochenschr. f. Brauerei XVII. Jahrg. 335 (1900).

² Fernbach & Hubert: Compt. rend. CXXXI, 293 (1900).

og normale Salte. Salte, der dekomponere Fosfaterne paa lignende Maade som Syrer og Alkalier, ville derfor have samme Virkning som disse. «

Nu er jo netop Forskjellen paa de organiske og de uorganiske Syrer denne, at de sidste, i Kraft af deres vidtgaaende Dissociation, virke langt stærkere sønderdelende paa de sekundære Fosfater end de første. Det var da af Interesse at se, om der var en Sammenhæng mellem disse Angivelser og de af mig fundne Love for de forskellige Syrers og Basers Indflydelse. Skulde dette være Tilfældet, maatte f. Ex. Tilsætningen af saa megen fri Syre til et Maltudtræk, at det reagerede neutralt paa Methylo-range (o: indtil alle sekundære Fosfater vare omdannede til primære), netop angive Optimum for den paagjældende Syres Virkning.

Jeg tilberedte derfor et Maltudtræk paa den sædvanlige Maade og titrerede det med henholdsvis $\frac{1}{10}$ normal Saltsyre, $\frac{1}{7}$ normal Svovlsyre og $\frac{1}{1}$ normal Eddikesyre med Methylo-range og med $\frac{1}{10}$ normal Natriumhydroxyd med Fenoltalein som Indikatorer. Nogen særlig stor Nøjagtighed i disse Bestemmelser tilstræbtes ikke og vilde ogsaa for saa vidt være illusorisk, som der med Hensyn til Indholdet af primære og sekundære Fosfater er individuelle Forskjelligheder mellem Maltudtræk; men Resultaterne vare dog fuldt ud tilfredsstillende til Belysning af det foreliggende Spørgsmaal.

10 Ccm. Maltudtræk, hvortil der var sat et Par Draaber Methylo-range, som gav det en dyb gul Farve, titreredes med de ovennævnte Syrer, som til forskellige Prøver sattes i en Mængde af $\frac{1}{2}$, 1, $1\frac{1}{2}$, 2, $2\frac{1}{2}$, 3 og $3\frac{1}{2}$ Ccm., og det søgtes da afgjort, ved hvilken Mængde det første rødlige Skjær viste sig, hvilket dog i nogle Tilfælde bedst kunde ske efter nogen Tids Henstand, naar det udskilte Bundfald havde sat sig. Det indtraf efter Tilsætning af

2 Ccm. $\frac{1}{10}$ normal Saltsyre

1,5 — $\frac{1}{7}$ — Svovlsyre = 2,1 Ccm. $\frac{1}{10}$ normal

1,0 — $\frac{1}{1}$ — Eddikes. = 10 — $\frac{1}{10}$ —

for Eddikesyrens Vedkommende dog ikke skarpt og med meget svage Overgange ved større Mængder.

For at give 10 Ccm. Maltudtræk, hvortil der var sat et Par Draaber Fenoltalein, et svagt rødligt Skjær, maatte der anvendes:

$\begin{matrix} 2,7 \\ 2,8 \end{matrix} \} = 2,75 \text{ Ccm. } \frac{1}{10} \text{ normal Natriumhydroxydopløsning.}$

Disse Bestemmelser lære, at der i det paagjældende Maltudtræk har været lidt mere primært end sekundært Fosfat, ialt saa meget, som svarer til c. 4,8 Ccm. $\frac{1}{10}$ Normalvæske (Fosfor-

syren regnet enbasisk). For at faa alt omdannet til primært Fosfat krævedes der c. 2 Ccm. $\frac{1}{10}$ normal Saltsyre og Svovlsyre og c. 10 Ccm. $\frac{1}{10}$ normal Eddikesyre, som, hvis de samme Mængder Syrer vare fordelte paa 20 Ccm. Forsøgsvæske, vilde have givet en Syrekonzentration paa henholdsvis $\frac{1}{100}$ og $\frac{1}{10}$ normal. Og netop ved disse Konzentrationer finde vi paa det nærmeste den største Virkning af de paagældende Syrer (se Tavle XI). Udover disse Konzentrationer gaar Virkningen for Saltsyre og Svovlsyre meget brat, for Eddikesyrens Vedkommende derimod meget langsomt, nedad. —

Ved Tilsætning af 2,75 Ccm. $\frac{1}{10}$ normal Natriumhydroxydopløsning til 10 Ccm. Maltudtræk blive alle primære Fosfater omdannede til sekundære. Skulde disse omdannes videre til normale Fosfater, maatte der yderligere tilsættes 4,8 Ccm. $\frac{1}{10}$ normal Alkali. I den af mig benyttede Forsøgsanstilling (se p. 81, III. Række, og p. 82—83, Natriumcarbonat) er jeg gaaet ud fra et neutraliseret Maltudtræk, og en Tilsætning til 20 Ccm. Forsøgsvæske (hvor 10 Ccm. Maltudtræk) af 4,8 Ccm. $\frac{1}{10}$ normal Alkali, vil derfor svare til en Alkalinitet i den samlede Forsøgsvæske af c. $\frac{1}{42}$ normal. Af Forsøgene fremgaar nu, at der ved $\frac{1}{50}$ normal Alkali kun er en yderst ringe proteolytisk Virkning, og forlængedes de af mig fundne Kurver for Natriumhydroxydets og Natriumcarbonatets Indflydelse, vilde de netop skjære Abscisseaxen ved c. $\frac{1}{40}$ normal Alkali eller, hvor Væskens Alkaliindhold voxer ud over den til normalt Fosfat svarende Mængde.

Efter denne Overensstemmelse mellem mine Forsøgsresultater og Fernbachs & Huberts Forklaring tvivler jeg ikke om, at denne i Hovedsagen er rigtig og aabenbart i højeste Grad vil kunne tjene til at uddybe vor Forstaaelse af Forholdet mellem Enzymvirkninger og Syrer, idet de fleste Enzympræparater vistnok indeholder fosforsure Salte, og disse saaledes komme til at spille en overmaade vigtig Rolle ved enzymatiske Processer. —

Alkohol.

Der tilberedtes Opløsninger af 2 % Proteïn i Alkohol paa 1, 3, 5, 10 og 20 Vægtprocent med den sædvanlige Mængde Mælkesyre (0,4 %). Ved Tilsætning af lige Rumfang Maltudtræk bleve Alkoholprocenterne da henholdsvis $\frac{1}{2}$, $1\frac{1}{2}$, $2\frac{1}{2}$, 5 og 10 %. For at der ikke skulde vige Alkoholdampe bort under Forsøgene, forsynedes Kolberne med en gjennemboret Prop, hvorfra et 40 Ccm. langt, snævert Glasrør, der lukkedes med en Vanddraabe, ragede i Vejret. Forsøgene varede 2 Timer ved 47°. Der anvendtes kun Garvesyre som Fældningsmiddel. Resultaterne vare:

Med 0 % Alkohol.....	11,25	Mgm. omdannet N	} Differens 3,74
— 1/2 - —	11,05	— —	
— 1 1/2 - —	10,65	— —	
— 2 1/2 - —	9,69	— —	
— 5 - —	7,51	— —	
— 10 - —	3,85	— —	} — 3,66

En Tilsætning af Alkohol er altsaa altid skadelig, og Virkningen er næsten fuldstændig proportional med Alkoholmængden. Den af de ovenanførte Tal tegnede Kurve (Tavle XII) er en fuldstændig ret Linje og vilde, om den fortsattes, skjære Abscissen ved c. 15 % Alkohol, d. v. s., her skulde Enzymet høre fuldstændig op at virke, hvilket man dog naturligvis ikke uden videre tør slutte uden direkte Forsøg.

Antiseptika.

Man gaar ofte fejlagtig ud fra, at man kan adskille en ren enzymatisk fra en ren fysiologisk Proces ved Tilsætning af et Antiseptikum, der skal dræbe de Celler, der ere Aarsagen til den sidste, uden at genere det fra den levende Celle adskilte Enzym. Men ofte ere de Stoffer, man bringer i Anvendelse, ikke en Gang i strængeste Forstand antiseptiske, og paa den anden Side turde mange Enzymer være lige saa følsomme overfor visse Antiseptika, som den levende Celle er det. Sagen er, at man kan ikke generalisere paa noget Punkt her. Ligesom der findes specifikke Gifte for de enkelte levende Celler, saaledes ogsaa for de enkelte Enzymer, og det er i Øjeblikket vanskeligt at paavise nogen Lovmæssighed for disse Forhold, ligesom de fleste Giftvirkninger jo i det hele taget ere ganske gaadefulde.

Naar Folk, der studere Enzymer eller søge at paavise disse, undertiden komme til negative Resultater, turde det ofte bero paa, at man ved Anvendelsen af et eller andet Antiseptikum hindrer det paagældende Enzym i at virke. Man burde i den fremtidige Enzymforskning nøje lægge sig dette paa Sinde. Netop i det her studerede Tilfælde vil man finde et Exempel paa den største Følsomhed overfor nogle af de ved Enzymstudier mest anvendte Antiseptika, ved Siden af en paafaldende Ufølsomhed overfor andre.

Som det vil fremgaa af det foregaaende, gik jeg snart over til at anstille mine — kortvarige — Forsøg uden Tilsætning af noget Antiseptikum, efter at jeg havde erfaret nogle af disses stærkt svækkende Indflydelse paa Processen. En tilfældig Iagttagelse ledede mig senere til specielt at undersøge Toluolets Ind-

flydelse, og rent teoretiske Betragtninger vare tildels Anledningen til, at jeg ogsaa gjorde Formålet til Genstand for en særlig Under-søgelse. Hvad jeg saaledes har at meddele, er ret fragmentarisk, og noget af det er tidligere offentliggjort¹, men jeg har dog flere nye Iagttagelser at tilføje, som kunne have nogen Interesse.

Den første Iagttagelse, jeg gjorde, var, at et Maltudtræk, der havde henstaaet i en Isspand ved 0° i 7 Dage, mættet med Thymol (der ikke opløses i mere end højst 1%), fuldstændig havde mistet sin proteolytiske Fermentevne, skjønt det ellers var ganske klart og lugtede friskt. Andre Forsøg (se p. 20) lærte mig, at Maltudtræk, der henstode paa samme Maade, men uden nogen Tilsætning, derimod bevarede deres Fermentevne omtrent usvækket i lige saa lang Tid. Jeg prøvede da i en Forsøgsrække (Forss. 519—534) samtidig Indvirkningen af flere forskellige Antiseptika og fik i 2 Timer ved 47° omdannet til Forbindelser, der ikke fældes af Garvesyre:

		Nedgang
Uden Antiseptika.....	9,96 Mgm. N.	"
Mættet med Thymol.....	6,72 —	3,24
— — Chloroform.....	5,82 —	4,14
Med 1% Formol.....	3,20 —	6,76
— — Benzoësyre.....	2,16 —	7,80
— — Salicylsyre.....	0,92 —	9,04

Naar de to sidste Stoffer, skjønt ikke særlige kraftige Antiseptika, have haft en særlig stærk, svækkende Indflydelse paa Fermentvirkningen, beror dette dog sikkert paa, at de fremkaldte en Bundfældning i Forsøgsvæsken og derved sandsynligvis have revet største Delen af Enzymerne med ned; muligvis kunne de ogsaa have omdannet Proteinet til et ikke fermentescibelt Stof. Nogle Mæskningsforsøg, som jeg forøvrigt ikke skal omtale nærmere her², viste nemlig en stærkt forøget Proteolyse ved Tilsætning af 0,2% Salicylsyre, hvor denne aabenbart har virket som Syre og ikke været tilstede i tilstrækkelig stor Mængde til at spille nogen Rolle som Fældningsmiddel. Men man ser, at saa vel Thymol som Chloroform og navnlig Formol have virket stærkt hæmmende paa Proteolysen. —

Jeg har dernæst anstillet særlige Undersøgelser over Proteolysens Forhold til Formol og Toluol.

¹ Fr. Weis: Zeitschr. f. physiol. Chemie XXXI, 84 (1900).

² Se Fr. Weis: ibid. p. 92—93.

Formol. Jeg benyttede hertil den sædvanlige i Handelen gaaende Formol- eller Formalinopløsning, der indeholder c. 40 % Formaldehyd.

I. Række (Forss. 549—566) gik ud paa at undersøge forskellige Dosers Indflydelse. For at hindre Formolet i at undvige vare Forsøgskolberne forsynede med Prop. I 2 Timer ved 47° blev der omdannet (o: unddrog sig Fældning med Garvesyre).

Uden Formol		10,16 Mgm. N.
Med 1 Draabe ¹ Formol = c. 0,05 % Formaldehyd	...	6,28 —
— 2 — — = c. 0,10 - —	...	6,34 —
— 4 — — = c. 0,20 - —	...	4,96 —
— 6 — — = c. 0,30 - —	...	4,16 —
— 8 — — = c. 0,40 - —	...	3,82 —
— 10 — — = c. 0,50 - —	...	3,12 —
— 12 — — = c. 0,60 - —	...	2,54 —

Paafaldende er den kolossale Virkning, som Tilsætningen af kun $\frac{1}{2}$ Promille Formaldehyd har haft (se forøvrigt nederste Kurve paa Tavle XII). —

II. Række (Forss. 535—548). Disse Forsøg bleve anstillede for at undersøge, hvor hurtigt en vis Mængde, her 1 % Formol (= 0,4 % Formaldehyd), virker. Ti muligvis standser al Fermentvirkning efter en vis Tids Forløb, fordi hele Enzymmængden er destrueret, muligvis bliver en Del af denne intakt under hele Forsøgstiden. Der fældedes kun med Garvesyre. Forsøgstemperaturen 47°:

	Uden Formol	Med 1 % Formol
Efter $\frac{1}{2}$ Time var der omdannet	3,82 Mgm. N.	1,12 Mgm. N.
— 1 — — — —	" —	2,14 —
— 2 — — — —	10,16 —	2,46 —

Disse Forsøgsresultater kunde tyde paa, at hele Enzymmængden efterhaanden blev destrueret, og at Maltudtrækket af 1 % Formol efter ca. 1 Times Forløb var gjort omtrent helt uvirksomt (se dog Forss. p. 93). — Det vilde her have sin Interesse at undersøge, om et Maltudtræk kunde gjenvinde sin Fermentevne, ved at Formolet uddreves ved Opvarmning, hvad jeg, om der ikke i Litteraturen havde foreligget Angivelser i modsat Retning om andre Enzymer, paa Forhaand ikke vilde være tilbøjelig til at tro.

¹ Af disse Draaber gik der c. 40 paa 1 Ccm., og Forsøgsvæsken bestod iøvrigt som sædvanlig af 10 Ccm. Maltudtræk + 10 Ccm. Proteïnopløsning.

Benedicenti¹ angiver, at forskellige Æggehvide-stoffer (Fibrin, Blodserum, Kasein, Hønsæggehvide og Gelatine) ved længere Tids Indvirkning af Formaldehyd blandt flere andre Forandringer ogsaa undergaar den at blive ufordøjelige saavel for Pepsin som Trypsin, idet Formaldehydet indgaar Forbindelser med de paa-gjældende Stoffer. Ved Ophedning i Dampstrøm kan det igjen fraspaltes, og Proteinstofferne gjenvinde deres oprindelige Egenskaber. Senere Forfattere have dog for Pepsinets Vedkommende fundet, at Formaldehyd kun hæmmer, men ikke helt ophæver dets Virkning. Og senest har Leo Schwarz («Ueber Verbindungen der Eiweisskörper mit Aldehyden»)², bekræftet disse Angivelser. Han lader Formaldehyd i ringe Mængde («nogle faa Draaber af en Formolopløsning») og i forskjellig lang Tid (fra »sehr kurz bis 2 Monate») indvirke bl. a. paa Serum-Albumin, hvorved der dannes Methylen-Serum-Albumin, der indeholder forholdsvis mere Kulstof og mindre Kvælstof end det oprindelige Serum-Albumin og har mistet sin Evne til at koagulere ved Kogning. Dette underkaster han en Fordøjelsesproces dels med Pepsin-Saltsyre, dels med Trypsin-Soda, og som Kontrol lader han de samme Enzymer virke paa friske Fibrintraade. Som Kriterium paa, om en Fordøjelse har fundet Sted, benytter han Biuretreaktionen. Men hvad enten han anvendte Methylen-Præparater, der indeholdt frit Formaldehyd eller ej, gave Forsøgene med Trypsin aldrig Biuretreaktion, selv efter 24 Timer, medens Pepsin-Forsøgene altid viste denne efter ganske kort Tids Forløb. Schwarz slutter deraf, at Formaldehydet omdanner Æggehvide-stoffet saaledes, at det ikke kan angribes af Trypsin (men nok af Pepsin). Han refererer i Forbindelse hermed en Angivelse af Bliss & Novy, der have foretaget en systematisk Undersøgelse af Formaldehydets Indflydelse paa Enzymer, at Trypsin let destrueres, medens Pepsin i ugevis kan taale indtil 5% Formaldehyd — ogsaa et Exempel paa, hvor specifikt de forskellige Antiseptika reagere paa Enzymer.

Disse Angivelser foranledigede mig til at anstille lignende Undersøgelser over Formaldehydets Indvirkning paa Hvedeprotein og Maltudtræk i følgende Forsøg:

III. Række (Forss. 1955 a—1962 a, 1981—1994). Den 2. April 1901 henstilledes 2 Kolber hver med 100 Ccm. af en mælkesur Proteinopløsning (2%), den ene med Tilsætning af 2% Formol og lukket med Korkprop, den anden uden Formol, men steriliseret ved

¹ A. Benedicenti: Arch. für Anat. u. Physiol. Phys. Abt. p. 219 (1897).

² Leo Schwarz: Zeitschr. für physiol. Chemie XXXI, 460 (1901).

Opvarmning paa kogende Vandbad og forsynet med Vatprop. Begge Kolber henstode ved Stuetemperatur og holdt sig fuldstændig klare. — Den 3. Maj Kl. 3 Eftm. henstilledes 2 Portioner af det samme, friske Maltudtræk i Isskabet, den ene med 2% Formol, den anden uden. Den formoliserede Prøve havde Dagen efter et opaliserende Skjær og var noget lysere (Formolet har aabenbart destrueret Oxydaserne) end den anden, der havde holdt sig fuldkommen klar og bevaret sin friske Lugt. Den 4. Maj anstilledes Forsøgene, idet de forskellige Prøver blandedes sammen. For Kortheds Skyld benævnes nu i det følgende Maltudtræk med og uden Formol henholdsvis ved Mu. + og Mu. ÷ og Proteïnopløsningerne ligesaa Prot. + og Prot. ÷. Under de aktive Forsøg, der varede $1\frac{3}{4}$ Time ved 50° , viste der sig karakteristiske Forskjelligheder mellem de formoliserede og ikke formoliserede Prøver, enten ved Dannelsen af et fyldigt Koagulum eller et krusteformet Bundfald eller Udeblivelsen af saadanne (angivet i en særlig Kolonne som + K, + B eller ÷ K, ÷ B). Der fældedes baade med Stannochlorid og med Garvesyre. Det anvendte Maltudtræk, der indeholdt 21,04 Mgm. Total-Kvælstof i 10 Ccm., hvoraf 13,64 Mgm. unddrog sig Fældning med Stannochlorid, 11,08 Mgm. med Garvesyre, var uden Tilsætning af Formol usædvanlig kraftigt virkende.

	Koagulations-fænomen	N i Filtrat fra Stannochlorid	Omdannet N	N i Filtrat fra Garvesyre	Omdannet N
		Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.
Mu. ÷ Prot. ÷.....	÷ K ÷ B	41,24	24,80	22,68	11,64
Mu. ÷ Prot. +.....	+ B	24,74	8,30	13,68	2,64
Mu. + Prot. ÷.....	+ K	25,76	9,32	12,92	1,88
Mu. + Prot. +.....	+ + K	19,84	3,40	11,48	0,44

Halvdelen af den med Formol behandlede Proteïnopløsning blev nu opvarmet i 20 Minuter paa kogende Vandbad for mulig at uddrive noget af Formolet og blev derefter i $1\frac{3}{4}$ Time ved 52° udsat for Paavirkning af en Del af Maltudtrækket, som ikke var formoliseret (Mu. ÷ Prot. + opvarmet). Til Sammenligning virkede dette samtidig paa en ikke-formoliseret Proteïnopløsning (Mu. ÷ Prot. ÷), og en paa anden, der var formoliseret, men ikke havde været opvarmet for at uddrive Formolet (Mu. ÷ Prot. +). Resultaterne vare:

	N i Filtrat fra Stan- nochlorid	Omdannet N	N i Filtrat fra Garve- syre	Omdannet N
	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.
Mu. ÷ Prot. ÷	48,44	32,00	23,12	12,08
Mu. ÷ Prot. +, ikke opvarmet ..	23,64	7,20	"	"
Mu. ÷ Prot. +, opvarmet	27,68	11,24	14,44	3,40

Jeg skal ikke komme ind paa en Drøftelse af de ejendomme-
lige Koagulationsfænomener, som jeg kun noterer, fordi de maaske
for andre Spørgsmaal kunne have en vis Interesse, men det fremgaar
klart af disse Forsøg, at Formaldehydet har en stærkt svækkende
og saa at sige samme Indflydelse, hvad enten det sættes til Pro-
teinopløsningen 1 Maaned forud eller til Maltudtrækket 1 Dag forud.
Sættes det til begge i den anvendte Mængde (2 % Formol), op-
hæver det næsten al proteolytisk Virkning. Det synes at have
særlig stærk Indflydelse paa den Proces, der afdækkes ved Garve-
syrefældningen eller paa Tryptasen. Men det har dog ikke, som
i Leo Schwarz' Forsøg, helt ophævet hverken den peptiske eller
den tryptiske Virksomhed, det har kun haft en stærkt svækkende
Indflydelse paa dem begge. Rimeligst er det at antage, at det
her virker i Forhold til sin Koncentration svækkende paa selve
Enzymerne og ikke i Kraft af, at det med Proteinet har indgaaet
en Forbindelse, som Enzymerne ikke kunne angribe. Paafaldende
er den overordentlig gunstige Indflydelse, som Opvarmningen af den
formoliserede Proteinopløsning i 20 Minuter har haft. Ogsaa dette
er jeg mest tilbøjelig til at forklare ved, at Procentmængden af
Formolet er formindsket ved Fordampning af frit Formaldehyd,
skjønt Benedicentis Angivelse (se p. 91) om Formaldehyd-Pro-
teinforbindelsens Dekomposition ved Opvarmning i Dampstrøm maaske
ogsaa kunde forklare Fænomenet.

Endelig har jeg undersøgt, hvilken Indflydelse en lang Tids
Indvirkning af Formol har paa et Maltudtræks proteolytiske Fer-
mentevne. Et Maltudtræk henstod saaledes med 1 % Formol i
Isskab ved 5° fra 15. Maj til 15. November, hvorefter Fermentevnen
havde forandret sig i følgende Forhold. Efter 2 Timers Indvirkning
ved 50° paa en Proteinopløsning unddrog sig:

	Fældning med Stannochlorid,	med Garvesyre
den 15. Maj	23,94 Mgm. N.	12,20 Mgm. N.
— 15. November	4,76 —	0,68 —

hvoraf ses, at den tryptiske Fermentevne efter det halve Aar var saa godt som ophævet, medens den peptiske vel var meget svækket, men dog tilstede endnu i kjendelig Grad.

Der ligger her, som man vil se, mange interessante Spørgsmaal, som det nok var værd at tage op til mere indgaaende Behandling.

Toluol. Det eneste af mig anvendte Antiseptikum, der kun har haft en ringe svækkende Indflydelse paa de proteolytiske Enzymer i Maltudtræk, er Toluol. Paa den anden Side er dets Værdi som Antiseptikum efter de Erfaringer, jeg har gjort, ikke altid, og navnlig ikke ved de for Bakteriernes Udvikling gunstige Temperaturer, særlig stor, men det er, som det vil fremgaa af de følgende Forsøg, et fortrinligt Middel til ved lave Temperaturer at konservere et Maltudtræks proteolytiske og særlig dets peptiske Evne. Da Toluol er uopløseligt eller kun yderst lidt opløseligt i Vand, har den tilsatte Toluolmængde sandsynligvis kun lidt at sige; vigtigt er det derimod, at hele Forsøgsvæsken »mættes« med Toluol ved Gjennemrystning af Massen, og en saadan Mætning finder selvfølgelig lettest Sted, naar der er rigelig Toluol tilstede, hvorfor der ved Opbevaringen af Maltudtræk helst bør tilsættes et helt Lag af Toluol over Forsøgsvæsken.

Til efterfølgende Forsøg (Forss. 2019—2034, 2231—34 og 2257—60) benyttedes et Maltudtræk, der i 10 Ccm. indeholdt en Totalkvælstofmængde af 21,23 Mgm. Det benyttedes dels i frisk Tilstand med og uden Tilsætning af Toluol, dels efter Henstand i 8 Dage i Isskabet ved 5° og endelig efter Henstand $\frac{1}{2}$ Aar paa samme Sted. Under Henstanden i Isskabet var det dækket med et Lag Toluol, og Massen gjennemrystedes godt 3—4 Gange i de første 8 Dage, men derefter yderligere kun 3—4 Gange i det følgende halve Aar. Medens Maltudtræk ved Henstand i Isskabet uden Toluoltilsætning ellers plejede efter 3—4 Dage at blive meget stærkt sure og uklare, havde dette efter 8 Dages Forløb holdt sig fuldstændig friskt og klart, ja selv efter et halvt Aars Henstand gjorde det et ganske friskt Indtryk, var kun blevet noget mørkere, og der havde dannet sig et ringe Bundfald. Fermentevnen prøvedes paa sædvanlig Maade, idet der benyttedes 10 Ccm. Maltudtræk + 10 Ccm. 2 procentholdig Proteinopløsning, en Forsøgstid af 2 Timer ved 50° og som Fædningsmidler saavel Stannochlorid som Garvesyre. Resultaterne ere sammenstillede i omstaaende Tabel (p. 95).

Det fremgaar af denne, at saavel det peptiske som det tryptiske Enzym paavirkes kjendeligt om end saare lidt af ganske smaa Mængder Toluol, og at Paavirkningen ikke bliver væsentlig stærkere, selv om Toluolmængden forøges. Det fremgaar end-

				Fældning med Stannochlorid		Fældning med Garvesyre	
				Ni Fil-tratet	Omd. N	Ni Fil-tratet	Omd. N
				Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.
⁷ / ₅ , 1901, friskt Maltudtr., passiv Prøve.....				16,32	"	9,92	"
—	—	—	med 0 Draaber Toluol	40,26	23,94	22,12	12,20
—	—	—	- 2 — —	"	"	21,16	11,24
—	—	—	- 4 — —	"	"	20,96	11,04
—	—	—	- 6 — —	38,24	21,92	20,60	10,68
—	—	—	- 8 — —	"	"	20,04	10,12
—	—	—	- 10 — —	"	"	20,60	10,68
¹⁵ / ₅ , efter 8 Dages Henst. m. Toluol v. 5°, akt. Pr. ¹				38,98	22,66	19,49	9,57
⁷ / ₁₁ , efter ¹ / ₂ Aars Henstand med { passiv Prøve				16,28	"	13,12	"
Toluol { aktiv —				31,28	15,00	16,88	3,76

videre af Tabellen, at Maltudtrækkets peptiske Evne slet ikke er svækket efter 8 Dages Henstand og efter ¹/₂ Aars Henstand endnu har omtrent ²/₃ af sin oprindelige Styrke, og den har i denne lange Tid ligesom hvilet, da Maltudtrækkets Indhold af Kvælstofforbindelser, der ikke fældes af Stannochlorid, er forbleven uforandret. Hvad den tryptiske Evne angaar, synes der allerede efter 8 Dage at være en begyndende Svækkelse at spore, men denne er dog saa ringe, at Maltudtrækket endnu efter et halvt Aars Henstand har en tydelig tryptisk Evne (omtrent ¹/₃ af den oprindelige Styrke) og den har i det halve Aar ikke været ganske hvilende, idet Maltudtrækkets Indhold af Kvælstofforbindelser, der ikke fældes af Garvesyre, er voxet kjendeligt.

IV.

ENZYMERNES NATUR OG VIRKEMAAD.

I de Forsøg, der ere omtalte i det foregaaende Afsnit, er der hele Tiden arbejdet med et vandigt Udtræk af Grøn malt paa det

¹ Forsøgstiden var ved dette Forsøg bleven 2¹/₂ Time i Stedet for 2 Timer. For Sammenligningens Skyld er derfor de fundne Tal multiplicerede med ⁴/₅, idet jeg har sat Indvirkningen proportional med Tiden. Der begaaes derigjennem en Fejl, som gjør denne Række Tal mindre paalidelige.

Stadium, da Spiringen afbrydes i Maltfabrikationen paa Gl. Carlsberg (o: paa den 9de Spiringsdag), og dette Udtræks proteolytiske Fermentevne er maalt ved dets Indvirkning paa en Hvedeproteinopløsning eller undtagelsesvis paa en Leguminopløsning. Der er da undersøgt, hvorledes Proteolysen — navnlig i de Faser, der afdekkes ved Fældning med Stannochlorid og Garvesyre — er afhængig af forskellige Faktorer som Temperaturen, Tiden, Fermentmængden, Proteïnets Koncentration, »fremmede« Stoffers Nærværelse og Korrelationer mellem disse. Da det anvendte Hvedeprotein er nær beslægtet med de Æggehvidestoffer, der ere aflejrede som Oplagsnæring i Bygkornet, kan Proteolysen i dette under Spiringen antages at følge lignende Love, som de af mig fundne.

De indvundne Resultater lade ingen Tvivl tilbage om, at Proteolysen virkelig er en enzymatisk Proces, der altsaa ogsaa kan foregaa udenfor den levende Celle, og der paatrænger sig nu en Række Spørgsmaal, som jeg i det følgende skal forsøge at give et mere eller mindre udtømmende Svar paa, nemlig bl. a.:

1) Om Aarsagen maa søges i et eller flere proteolytiske Enzymer, som det er muligt at adskille eller renfremstille.

2) Hvilke fysiske og kemiske Egenskaber disse have.

3) Hvilke Æggehvidestoffer de kunne omdanne.

4) Hvilke Stoffer der dannes under deres Virksomhed.

5) Naar de optræde i den unge Kimplante eller,

6) Om de allerede findes — i aktiv Tilstand eller som Zymogener — i det uspirede Bygkorn.

Der kunde naturligvis stilles endnu langt flere Spørgsmaal, men til Besvarelsen af ovennævnte mener jeg at kunne give Bidrag, selv om disse i enkelte Tilfælde kun blive smaa og utilfredsstillende.

Jeg har her i det hele taget ikke arbejdet efter en systematisk Plan, men mine Forsøg desangaaende ere for en Del at betragte som lejlighedsvis Digressioner fra det, der oprindeligt var min Hovedopgave: at finde de store almindelige Love for Proteolysen. Enkelte af Spørgsmaalene vare imidlertid saa tillokkende, at jeg har gjort dem til Gjenstand for en mere indgaaende Undersøgelse.

Den Tidsfølge, hvori Forsøgene ere anstillede, har været en anden end den, hvori Resultaterne nu meddeles. Her har jeg nemlig ment først at burde fremdrage det, der kan tjene til Belysning af de følgende Spørgsmaal, og for at orientere Læserne

vil jeg desuden paa enkelte Steder anføre mine Slutninger før de Forsøgsresultater, hvorpaa jeg grunder dem.

Som et af de Spørgsmaal, der først trænger sig paa, og som allerede flere Gange er berørt i det foregaaende Afsnit, fremsætter jeg strax følgende:

1. Findes der i spirende Byg flere proteolytiske Enzymer, som det er muligt at adskille eller renfremstille?

Paa dette Spørgsmaal har jeg allerede tidligere svaret, at jeg antager, der findes mindst to — et peptisk og et tryptisk — foruden et æggehvidekoagulerende, der som Løbe bl. a. ogsaa virker paa Kaseinet i Mælk, og hvorover jeg andetsteds har offentliggjort nogle Forsøg¹. Ligeledes har jeg tidligere anført, at naar jeg taler om et peptisk og et tryptisk Enzym, saa forstaar jeg herved saadanne, af hvilke det første kun fører Æggehvidenedbrydningen ned til Albumoser og Peptoner eller saadanne Stoffer, der vel fældes af Garvesyre, men ikke af Stannochlorid, medens det andet nedbryder de først nævnte Omdannelsesprodukter videre til saadanne Forbindelser, der ikke blot unddrage sig Fældning med Garvesyre, men ogsaa tildels med Fosfor-Wolframsyre og Uranacetat, og hvorimellem der bl. a. findes betydelige Mængder af Ammoniak samt i enkelte Tilfælde (ved Fordøjelsen af Fibrin) saadanne Grupper, der med Bromvand i eddikesur Opløsning give Tryptofanreaktionen. Til den nærmere Karakteristik af disse Enzymer vil jeg senere vende tilbage, men her foreløbig kun fremlægge Grundene for min ovennævnte Paastand, og undersøge, hvorvidt de to Enzymer ere i Stand til at virke uafhængigt af hinanden, eller om der findes et gensidigt Afhængighedsforhold imellem dem.

Af hele det foregaaende Afsnit vil det fremgaa, at Proteolysen foregaar i mindst to Faser eller bestaar i to Virksomheder, der vise et noget forskjelligt Afhængighedsforhold til ydre Faktorer. En iøjnefaldende Forskjel viser sig saaledes ved Temperaturens Indflydelse paa de to Virksomheder, der afdækkes af henholdsvis Stannochlorid- og Garvesyrefældningen (se p. 35 ff). Ikke blot have de to Temperaturkurver en meget forskjellig Form, men Minimum og Optimum ligge ved forskjellige Temperaturer, saaledes som jeg har gjort opmærksom paa p. 42—43 (se ogsaa Tavle I).

Forfølges Proteolysen gennem en længere Forsøgstid, ses der ogsaa en paafaldende Forskjel mellem de to Virksomheders Forløb.

¹ Fr. Weis: Zeitschr. für physiol. Chemie XXXI, 96 (1900).

Ved svage Koncentrationer af Protein (1 %) har den ene (den peptiske) naaet sit Maximum efter omtrent 3—6 Timers Forløb, medens den anden (den tryptiske) strax foregaar langsommere, men til Gjengjæld ogsaa fortsættes jævnt til henimod 48 Timer, hvor de Kurver, der angive de to Processer, omtrent skjære hinanden. Og selv om der anvendes stærkere Koncentrationer af Protein ($2\frac{1}{2}$ og 5 %), er det dog altid karakteristisk for den peptiske Kurve, at den strax stiger meget stejlt, i den første Time endog næsten lodret, men forholdsvis hurtigt bøjer stærkt af mod Abscisseaxen, medens den tryptiske fra Begyndelsen af stiger mindre stejlt, men saa ogsaa fortsætter i længere Tid i noget nær samme Retning. — Her er der naturligvis et indbyrdes Afhængighedsforhold mellem de to Virksomheder, saaledes at den ene Kurve delvis bestemmes af den anden, hvad jeg snart skal komme tilbage til.

Endvidere fremgaar det af mine Forsøg over »fremmede« Stoffers Indflydelse paa Proteolysen, at de to Faser i denne ofte paavirkes i ret forskjellig Grad af disse, d. v. s. at de ikke foregaa lige godt i samme Milieu. Sandsynligvis vil man særlig kunne iagttage dette ved Tilsætning af forskellige Kvanta Syrer, da disse jo i det hele spille saa stor en Rolle som zymoplastiske Agentier, men desværre har jeg ikke naaet at undersøge Syrernes Indflydelse paa mere end den ene af de to Virksomheder, den tryptiske. Derimod give mine Forsøg over Alkaliers Indvirkning Vink om og Forsøgene over forskellige Antiseptikas Indflydelse tydelige Beviser for, at de to Virksomheder virkelig paavirkes i højest forskjellig Grad af et og samme Stof.

Baade Natriumhydroxyd og normalt Natriumcarbonat have en langt ringere zymoplastisk Evne — hvis de overhovedet have nogen (Forholdet ved neutral Reaktion er jo som nævnt p. 74 ikke nærmere undersøgt) — end de undersøgte Syrer, og en ganske ringe Tilsætning af Alkali hindrer fuldstændig Proteolysen. Særlig gjælder dette for den tryptiske Virksomhed, der allerede lammes ved de mindste Doser Alkali, og dette saa stærkt, at den ved c. $\frac{1}{40}$ normalt Alkali er fuldstændig ophævet.

Hvorledes forskellige Antiseptika, og da navnlig Formol og Toluol, virke paa Maltudtrækkets proteolytiske Evne, er udførligt omtalt p. 88 ff. Jeg kan da her nøjes med at gjøre opmærksom paa enkelte særlig fremtrædende Træk.

Ser man paa Forholdet mellem den peptiske og tryptiske Nedbrydning efter en kortere Forsøgstid — 2 Timer —, naar der ikke er tilsat noget Antiseptikum eller andet skadeligt Stof, saa er det i Almindelighed som 2:1, d. v. s. at efter den Tids Forløb har

omtrent dobbelt saa meget Kvælstof unddraget sig Fældning med Stannochlorid som med Garvesyre. Men er der tilsat Antiseptika, eller navnlig naar Maltudtrækket i nogen Tid, før Forsøget anstilles, har været under Paavirkning af et saadant, forrykkes næsten altid dette Forhold saaledes, at den tryptiske Nedbrydning svækkes stærkere end den peptiske eller tilsidst næsten helt ophører (se Forss. p. 92 og 95). Medens saaledes f. Ex. den peptiske Evne i et Maltudtræk, der havde henstaaet i $\frac{1}{2}$ Aar med Toluol, kun var gaaet ned til c. $\frac{2}{3}$ af den oprindelige, var den tryptiske gaaet ned til c. $\frac{1}{3}$, og i en anden Prøve af samme Maltudtræk, der havde henstaaet med Formol i samme Tid, var Svækkelsen naaet henholdsvis til c. $\frac{1}{5}$ og $\frac{1}{18}$ af den oprindelige Fermentevne, eller det indbyrdes Forhold mellem den peptiske og tryptiske Evne var i Toluolpræparatet blevet som c. 4 : 1, i Formolpræparatet som 7 : 1.

De her paapegede Forhold synes mig at tale for, at man maa søge mindst to Aarsager til de forskellige Faser af Proteolysen, og gaar man ud fra, at Processen er enzymatisk — hvilket jo i og for sig ikke betyder andet, end at man ikke kjender dens egentlige Aarsag — og antager man Enzymerne for Enheder, enten i kemisk eller fysisk Forstand, d. v. s. at de enten ere kemiske Individer af en særegen Konstitution eller molekulære Svingninger af en bestemt Kvalitet, saa synes det mig ogsaa logisk nødvendigt at henhøre de forskellige Virksomheder til forskellige Enzymer, i det mindste til to. Saa længe man ikke har andet Kriterium paa Enzymer end deres Virkninger, maa man for hver specifik Virkning, der foregaar efter ganske bestemte Love, antage ét Enzym. Man kunde nok tænke sig, at et og samme Enzym kunde udøve flere forskellige Virkninger, d. e. kunde sonderdele flere forskellige Molekuler (saadanne kjendes jo særdeles vel, f. Ex. Emulsin og Myrosin). Men naar Nedbrydningen af ét Molekule foregaar efter helt andre Love end Nedbrydningen af andre, eller naar et Maltudtræk ved forskellig ydre Paavirkning fuldstændig eller næsten fuldstændig mister Evnen til at fremkalde en vis Art af Sønderdelinger, medens dets øvrige Funktioner bevarer næsten usvækkede, saa er det vel nok det naturligste at søge Forklaringen derpaa i, at et eller andet Enzym destrueres eller svækkes af denne ydre Faktor, medens andre ikke paavirkes i saa høj en Grad.

Herfor tale maaske mere end noget af det hidtil fremførte Resultaterne fra en særlig lille Forsøgsrække. Jeg havde flere Gange prøvet at fremstille et tørt Enzympræparat ved til et vandigt Maltudtræk at sætte 3—4 Gange dets Rumfang absolut Alkohol. Det derved dannede Bundfald filtreredes fra, vaskedes tørt med

Alkohol, tørredes senere i Vakuum over Svovlsyre, og dets proteolytiske Evne prøvedes da efter Gjenopløsning i Vand paa sædvanlig Maade ved Indvirkning paa en svagt mælkesur Proteinopløsning. Jeg anvendte her oprindelig kun Garvesyre som Fældningsmiddel og fik da altid intet eller saa smaa Udslag af proteolytisk (tryptisk) Fermentevne, at jeg var mest tilbøjelig til at henregne dem til Forsøgsfejlene og akviescere ved, at det paa denne Maade ikke vilde lykkes at fremstille et virksomt Enzympræparat.

Senere gik jeg frem paa en lidt anden Maade. 440 Gm. knust Grøn malt blev digereret med 440 Ccm. Glycerin + 150 Ccm. Vand. Efter gentagne Omrøringer henstilledes det i Isskab i to Døgn, blev derpaa presset, og den udpressede Væske henstillet paa Filter i Isskabet endnu et Døgn. Der vandtes paa denne Maade 400 Ccm. klart Filtrat, hvoraf 300 Ccm. hældtes i tynd Straale i 2 Liter absolut Alkohol. Det udskilte Bundfald filtreredes fra paa Nutsch og udvaskedes (for Glycerin og Vand) med absolut Alkohol, henlagdes dernæst paa Filtret til Tørring i Luften, pulveriseredes Dagen efter, udvaskedes paany med absolut Alkohol og tørredes igjen ved at ligge i Luften til næste Dag og derefter i Vakuum over Svovlsyre i 10 Dage. Det samlede Udbytte var da 4 Gm. af et hvidt Pulver med gulligt Anstrøg. Af dette Pulver digereredes 0,5 Gm. med 100 Ccm. Vand og 0,1 Gm. Mælkesyre, opvarmedes forbigaaende til 50° og henstilledes i Isskab til næste Dag. Hvad der var gaaet i Opløsning (Enz.-Aq.) filtreredes fra, og Resten behandledes med Glycerin, hvori den omtrent fuldstændig opløstes; dog filtreredes ogsaa denne Opløsning (Enz.-Glyc.), før den toges i Brug. Den proteolytiske Fermentevne hos de to Opløsninger prøvedes derefter ved Indvirkning i 2 Timer ved 50° paa lige Rumfang af en 2 Procents Proteinopløsning i 0,4 procentholdig Mælkesyre, hvorved Forsøgsvæskernes Indhold af denne sidste blev henholdsvis 2,5 ‰ og 2 ‰. Foruden Garvesyre anvendtes nu ogsaa Stannochlorid som Fældningsmiddel. Resultaterne fremgaa af omstaaende Tabel.

Der viste sig altsaa her som tidligere slet ingen Virkning i den Fase, der afdækkes af Garvesyren (det negative Tal for »omdannet Kvælstof« i sidste Forsøg hidrører naturligvis fra Forsøgsfejl), medens den peptiske Virkning var ret betydelig i Forhold til »Enzym«opløsningens Koncentration (som jeg snart skal vende tilbage til).

Med samme Præparat anstillede jeg derefter endnu en Række Forsøg, idet jeg dog her anvendte en dobbelt saa stærk Koncentration (1 ‰) af Enzymet, fremstillet ved Behandling af det tørre

	Fældningsm.	N i Filtratet		Omdannet N
		Strax	Eft. 2 Timer ved 50°	
		Mgm.	Mgm.	Mgm.
Enz.-Aq.....	Stannochlorid	2,44	5,64	3,20
— —	Garvesyre	1,28	1,28	0,00
Enz.-Glyc.	Stannochlorid	2,10	2,10	0,00
— —	Garvesyre	0,70	0,40	÷ 0,30

Enzympræparat i $\frac{1}{2}$ Time ved 45° med svagt mælkesurt Vand. Efter Filtreringen toges Opløsningen strax i Brug, og da Præparatet muligvis var for fattigt paa Askebestanddele, sattes der til Opløsningen $\frac{1}{2}$ % Natriumchlorid. Til Kontrol opvarmedes en Del af Opløsningen til 100° for at destruere Enzymet, hvorefter den ikke-kogte og den kogte Del som før blandedes med Proteinopløsningen og henstode hermed i 2 Timer ved 50°. Resultaterne vare:

	Fældningsm.	N i Filtratet		Omdannet N
		Strax	Eft. 2 Timer ved 50°	
		Mgm.	Mgm.	Mgm.
Enzymopløsning ikke kogt..	Stannochlorid	4,32	12,10	7,78
— — ..	Garvesyre	1,78	2,92	1,14
Enzymopløsning kogt.....	Stannochlorid	4,08	4,24	0,16
— —	Garvesyre	1,72	1,84	0,12

Medens Udslagene for den kogte Enzymopløsning falde ind under Forsøgsfejlene, er der dog en tydelig tryptisk Virkning at notere ved den ikke kogte Prøve. Men den peptiske Virkning er, proportionalt med Koncentrationen af Enzymerne, ogsaa voxet til over det dobbelte fra før, og den er ikke synderligt svagere end den tilsvarende i et friskt Maltudtræk¹.

¹ Dette vil fremgaa af følgende Betragtning. Regner man, at 10 Ccm. af det oprindelige Maltudtræk i Løbet af 2 Timer ved 50° kunne omdanne 10 Mgm. Kvælstof saaledes, at de unddrage sig Fældning med Stannochlorid, saa vilde 300 Ccm. kunne omdanne 300 Mgm. Kvælstof, og 4 Gm. af Enzympræparatet skulde, hvis dette var usvækket, og hvis alt Enzym var udfældet, kunne gjøre det samme, hvorefter 10 Ccm. af en 0,5 Procents Opløsning skulde kunne omdanne 3,75 og 10 Ccm. af en 1 Procents Opløsning 7,50 Mgm. Kvælstof i 2 Timer.

Selv om den tryptiske Virksomhed altsaa ikke er helt undertrykt, er dog Forholdet mellem den peptiske og den tryptiske Fermentevne blevet som $7.78/1.14 = c. 7/1$ mod det sædvanlige $2/1$, eller den tryptiske Fermentevne er svækket i endnu højere Grad end ved Tilsætning af Antiseptika til et Maltudtræk.

Det ligger da nært at slutte, at af de to proteolytiske Enzymer, som jeg mener at have paavist i et Maltudtræk, kun det ene lader sig fremstille nogenlunde usvækket ved den sædvanlige Udfældningsmetode med stærk Alkohol. Rimeligvis destrueres det andet af selve Alkoholen, hvilket stemmer med (se p. 87—88), at den tryptiske Fase i Proteolysen hæmmes meget betydeligt ved Tilsætning af Alkohol og omtrent proportionalt med stigende Koncentrationer af dette Stof. Det vilde da naturligvis være interessant at faa oplyst, hvorledes Alkohol virker paa den peptiske Fase af Proteolysen. Maaske man ved Tilsætning heraf kunde hindre, at Proteolysen gik videre end til Albumose- og Peptondannelse. — Maaske ere vi ogsaa her inde paa Vejen til en fuldstændig Adskillelse af de to Enzymer og en Renfremstilling af det ene af dem.

Til et absolut sikkert Bevis for, at der virkelig findes to Enzymer, maa der stilles det Krav, at deres Virkninger fuldstændig kunne adskilles, og mine Forsøg ere jo i saa Henseende ikke helt fyldestgørende. Spørgsmaalet bliver da ogsaa, om det ene Enzym kan virke ganske uafhængigt af det andet, eller der er et ensidigt eller gjensidigt Afhængighedsforhold imellem dem tilstede. Mine Forsøg tyde paa, at det peptiske Enzym kan virke uden det tryptiskes Medvirkning, men hvor vidt det understøttes eller hæmmes af dette, fremgaar ikke umiddelbart af mine Forsøg. Jeg er imidlertid tilbøjelig til at tro, at det tryptiske Enzym — ganske bortset fra, om det i sig ogsaa besidder Evnen til at peptonisere, d: danne de første hydrolytiske Spaltningsprodukter (Albumoser, Peptoner) — maa understøtte det peptiske ved at fjerne dets Gjæringsprodukter, der sandsynligvis ellers vilde faa Peptoniseringen til at standse ved et Ligevægtpunkt. Og paa den anden Side vil det peptiske Enzym sikkert fremskynde den tryptiske Nedbryd-

Nu er der netop med tilsvarende Koncentrationer fundet 3,20 og 7,78 Mgm. omdannet Kvælstof, saa selv om den proteolytiske Virkning i et friskt Maltudtræk her er sat noget lavt, saa kommer det tørre Præparats peptiske Fermentevne dog nær op imod den sædvanlige, især naar det tages i Betragtning, at en Del af Præparatet gik tabt under Fremstillingen (om Fermentevnen hos Glycerinudtræk i Sammenligning med vandige Udtræk, se p. 105).

ning ved at besørge de første Faser i Proteolysen og saaledes skaffe et simplere bygget Gjæringsmateriale til Veje. Naar den tryptiske Virksomhed dog skrider langsommere frem end den peptiske, saa forklares dette simpelt dels derved, at den stadig forsynes med nyt Gjæringsmateriale fra denne, og dels ved, at Gjæringsprodukterne her ikke fjærnes, med mindre man antager en Række andre Enzymer, der fasevis føre Nedbrydningen af Æggehvdestofmolekulet videre og videre ned til de simpleste uorganiske Forbindelser — hvad der à priori ikke vil være noget i Vejen for at antage.

Det vilde naturligvis være haabløst paa Grundlag af de foreliggende Forsøg at begynde paa at drøfte, hvorvidt det tryptiske Enzym ogsaa er i Stand til at peptonisere eller ej. Almindeligvis antages vel det dyriske Trypsin for at være et enkelt Enzym, hvad jeg dog stiller mig højest tvivlende overfor, og man tillægger det ogsaa Evnen til at danne Albumoser og Peptoner. I saa Fald var der heller ingen Grund til at nægte det vegetabiliske Trypsin denne Evne. Men man vil let se, at dette er et yderst vanskeligt Spørgsmaal at afgjøre, da ethvert positivt Udslag af Peptonisering altid vil kunne forklares derved, at det peptiske Enzym ikke har været helt fjærnet, og efter alt, hvad der foreligger, synes de tryptiske Enzymer at være langt mere følsomme overfor ydre skadelige Paa-virkninger end de peptiske¹.

Men under alle Omstændigheder maa man have denne Samvirken mellem de to Enzymer for Øje, naar man vil finde Love for de enkeltes Funktioner. De Kurver, der i det foregaaende Afsnit ere fundne for den peptiske Fase af Proteolysen, vilde muligvis have faaet helt andre Former, hvis ikke samtidig den tryptiske Virksomhed var foregaaet, saa jeg værger mig her mod den Opfattelse, at jeg mener at have fundet såadanne Love for de to Enzymer, som de ogsaa vilde følge, hvis de virkede hver for sig. Naar jeg her har søgt at analysere, er jeg mig dog fuldt bevidst, hvor lidet jeg har naaet i Retning af en Adskillelse mellem to Virksomheder, og jeg vil derfor udtrykkelig betone, at jeg anser Proteolysen i det spirende Byg for langt mere kompliceret, end at man skulde kunne udrede dens Forløb i de enkelte Faser efter de

¹ Forøvrigt kjendes der nu et Enzym, der ikke kan omdanne egentlige Æggehvdestoffer, men derimod kan spalte Albumoser og Peptoner til krystallinske Forbindelser, nemlig det af Cohnheim beskrevne Erepsin (se Zeitschr. f. physiol. Chemi XXXIII, 459 (1901) og XXXV, 134 (1902).

Data, jeg har bragt tilveje. Jeg mener snarere, at der herigjennem er rejst en Række nye Problemer.

Dog tror jeg, at man i det her anførte vil finde tilstrækkelige Grunde for den Antagelse, at der findes mindst to proteolytiske Enzymer (Peptase og Tryptase) i spirende Byg.

2. Kemiske og fysiske Egenskaber.

Hvad jeg herom kan meddele, refererer sig for Størstedelen til det tryptiske Enzym, da de fleste Forsøg udelukkende ere anstillede med Garvesyre som Fældningsmiddel. Men da der som oftest er arbejdet med Maltudtræk, hvori altid samtidig det peptiske Enzym har været til Stede, kunne mine Forsøgsresultater ikke gjøre Fordring paa at gjælde absolut for det enkelte Enzym, der maaske vilde forholde sig helt anderledes, hvis det var isoleret. En Række Enkeltheder, der naturligst vilde høre hjemme her, ere meddelte i foregaaende Afsnit, hvortil der da blot vil blive henvist (saaledes navnlig til Afsnittet »Fremmede Stoffers Nærværelse«).

Opløselighed. Karakteristisk for vel alle hidtil kjendte Enzymer er deres Opløselighed i Vand, og i saa Henseende danne de her omhandlede ikke nogen Undtagelse. Jeg har jo saa godt som altid arbejdet med et vandigt Udræk af Malt. Spørgsmaalet var imidlertid, om ikke andre Opløsningsmidler vare bedre, d. v. s., om man ikke fik en kraftigere Fermentvirkning ved at tilberede Maltudtrækkene paa en anden Maade. Det laa nær at prøve at udtrække med en svag Opløsning af en af de Syrer, der havde vist sig at have en fremmede Indflydelse paa Proteolysen. Jeg har hertil valgt Mælkesyre og anvendt baade Grøn malt og Køllemalt. Tillige har jeg prøvet, hvilken Indflydelse Tilsætningen af en ringe Mængde Glycerin (2 %) havde paa et Grønmaltsudtræks Fermentevne.

(Forss. 1155—1170). Her anvendtes Køllemalt, der blev malet til fint Mel paa en Kværn, og digereredes i 2 Timer i Iskab under Omrøring c. hvert 10de Minut.

- 1) 100 Gm. Malt + 400 Gm. Vand (= Mu.-Aq.).
- 2) 100 Gm. Malt + 400 Gm. Vand med 0,2 % Mælkesyre (= Mu.-Lact.)

Til 10 Ccm. af Filtraterne sattes 10 Ccm. af en 2 procentholdig Proteïnopløsning med henholdsvis 0,4 og 0,2 % Mælkesyre, saaledes at Koncentrationen af denne i Forsøgsvæsken altid blev 0,2 %. Der fældedes strax og efter 2 Timer ved 47° med Garvesyre.

	Total-N	N i Filtratet		Omdannet N
		Strax	Efter 2 Timer ved 47°	
	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.
Mu.-Aq.	10,72	5,90	5,94	0,04
Mu.-Lact.	11,46	6,82	7,72	0,90
Mu.-Aq. + Protein.	—	—	9,00	3,10
Mu.-Lact. + Protein.	—	—	11,62	4,80

Man ser, at det mælkesure Udtræk baade har været lidt rigere paa Kvælstof og har haft større tryptisk Fermentevne end det vandige.

(Forss. 1775—1798). Her anvendtes Grøn malt, der knustes paa sædvanlig Maade og derefter digereredes:

- 1) 3 Dele Malt m. 4 Dele Vand (= Mu.-Aq.)
- 2) — — — — m. 0,2 % Mælkesyre (= Mu.-Lact.)
- 3) — — — — m. 2 % Glycerin (Mu.-Glyc.).

Efter c. $\frac{1}{2}$ Times Henstand ved almindelig Temperatur under Omrøringer bragtes de forskjellige Portioner paa Filtre og henstode i Isskab til næste Dag, hvorefter som ovenfor Udtrækkenes Indvirkning paa Hvedeprotein ved en Koncentration af Mælkesyre paa 0,2 % prøvedes. Der fældedes strax og efter $2\frac{1}{2}$ Time ved 47° med Garvesyre.

	Total-N	N i Filtratet		Omdannet N
		Strax	Efter $2\frac{1}{2}$ T. ved 47°	
	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.
Mu.-Aq.	19,33	9,18	21,14	11,96
Mu.-Lact.	22,38	11,64	23,32	11,68
Mu.-Glyc.	18,90	9,28	19,80	10,52

Det vandige og det mælkesure Udtræk forholde sig altsaa praktisk talt ens i Henseende til Fermentevne, medens det sidste indeholder noget mere baade af Total-Kvælstof og af Kvælstof, der ikke fældes af Garvesyre, — sikkert fordi der er foregaaet en

Proteolyse i det under selve Extraktionen. Det glycerinholdige Udtræk staar derimod lidt tilbage for begge de andre, baade i Henseende til Fermentevne og Kvælstofindhold; men Forskjellen er dog ubetydelig. — Selve Enzymet er altsaa lige saa godt opløseligt i Vand som i en svagt sur eller glycerinholdig Væske. At Tilsætning af Mælkesyre understøtter dets Virkning, har altsaa ikke noget med dets Opløselighed at gjøre (om Indflydelsen af en forbigaaende Neutralisering af et surt reagerende friskt Maltudtræk se p. 81).

At det af vandige og Glycerin-Udtræk af Grøn malt med stærkt Alkohol udfældede Bundfald kun har en svag tryptisk Fermentevne, medens en kraftig peptisk Virkning kunde paavises i det af Glycerinudtrækket fremstillede Præparat, er omtalt ovenfor (p. 100 ff.). Rimeligvis vilde et vandigt Udtræk give et lige saa kraftigt peptisk Præparat, men dette er ikke direkte undersøgt. Naar den tryptiske Fermentevne kun findes i saa ringe Grad hos de omtalte Præparater, kunde man tænke sig, at det paagjældende Enzym forblev i Opløsning. Dette er dog lidet sandsynligt, fordi den tryptiske Fermentevne er knyttet til ikke-dialysable Forbindelser (som nedenfor skulle omtales), der saaledes efter al Sandsynlighed maatte udfældes af Alkoholen.

Det af Glycerinudtrækket med Alkohol udfældede Produkt, der maa antages at indeholde det peptiske Enzym sammen med en Del andre Stoffer, hovedsagelig Æggehvide-stoffer og Fosfater, gav opløst i Vand en meget smuk og kraftig Biuretreaktion, men fældedes ikke fuldstændigt af Stannochlorid.

Diffusionsevne. Hvorvidt de Stoffer, der ere i Besiddelse af Fermentevne, ogsaa ere i Stand til at diffundere gennem dyriske eller vegetabiliske Hinder eller ej, er et Spørgsmaal, der har stor Interesse baade for Afgjørelsen af, til hvilken Stofgruppe de maa henregnes, og for Forstaaelsen af en Række fysiologisk-kemiske Processer i den levende Organisme. De fleste Undersøgelser desangaaende have ført til det Resultat, at Enzymerne slet ikke eller dog kun i meget ringe Grad ere diffusible, og da flere andre Grunde tale for, at de høre til de proteinagtige Forbindelser, ere de rimeligvis enten egentlige Æggehvide-stoffer eller i hvert Fald ikke mindre komplicerede Afledningsprodukter af disse end Albumoser og dermed nær beslægtede Forbindelser.

De Forsøg, jeg har anstillet med de her omhandlede Enzymer, bekræfte i Hovedsagen den ovenfor anførte almindelige Antagelse. Af Hensyn til Spørgsmaalets store Interesse, og da mine første Forsøg gave Resultater, der kunde tyde paa en svag Diffusibilitet

hos Enzymerne, anstillede jeg to Rækker med forskellige Maltudtræk.

I. Række (Forss. 1995—2018). Af et Grøn maltudtræk, der blev tilberedt den 5. Maj Kl. 4, bleve samme Dag 150 Ccm. anbragte i en tæt Fiskeblære og nedhængte i et Cylinderglas med 150 Ccm. destilleret Vand. Det hele blev stillet i Isskab til næste Dags Formiddag Kl. 10. Der var da 160 Ccm. inden i Blæren (A) og 140 Ccm. udenfor (B). Der udtoges Prøver af begge (A og B) til Bestemmelse af Total-Kvælstof, af Kvælstof, som ikke fældes af Stannochlorid og Garvesyre, og til Maaling af de to Opløsningers proteolytiske Fermentevne, saavel i peptisk som i tryptisk Retning, idet jeg hertil lod dem virke paa en Proteinopløsning i 3 Timer ved 50°.

	Total-N	N i Filtratet fra 10 Ccm. Protein + 10 Ccm. Mu. fældede m. Stannochlorid			N i Filtratet fra 10 Ccm. Protein + 10 Ccm. Mu. fældede med Garvesyre		
		Strax	Efter 3 Timer	Omd. N	Strax	Efter 3 Timer	Omd. N
	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.
⁶ / ₅ . A	12,22	9,40	27,56	18,16	4,84	11,72	6,88
B	2,22	4,12	4,64	0,52	2,08	2,28	0,20
⁷ / ₅ Efter yderl. 1 Døgn's Dialyse							
A	10,82	8,84	25,16	16,32	4,08	10 20	6,12
B	3,64	5,48	5,80	0,32	3,44	3,52	0,08

Det synes altsaa, som der i det første Dialysat, B, den ⁶/₅ var en ganske ringe baade peptisk og tryptisk Fermentevne, der dog den følgende Dag var taget betydeligt af, skjønt Totalkvælstofmængden i Dialysatet var betydelig forøget. Men paa saa smaa Tal kan man naturligvis ikke bygge sikre Slutninger, hvorfor jeg anstillede følgende nye Forsøg.

II. Række (Forss. 2151—2170). Maltudtrækket var tilberedt den 20. Maj, havde henstaaet i Isspand, holdt sig fuldstændig klart og bevaret en meget betydelig Fermentevne, som Forsøgene ville vise. Den 31. Maj bleve 200 Ccm. heraf anbragte i en Blære, og denne nedsænket i et smalt Cylinderglas med 100 Ccm. destilleret Vand, der gik saa højt op, at Væskeoverfladen inde i Blæren stod c. ¹/₂ Cm. højere end udenfor. Fiskeblærens Tæthed var i Forvejen omhyggelig prøvet, ved at den i ¹/₂ Time før dens An-

vendelse havde hængt frit i Luften, fyldt med Vand, uden at afgive en Draabe af dette. Dagen efter, den 1. Juni, stod Væsken inde i Blæren $2\frac{1}{2}$ Cm. højere end udenfor, og Rumfanget var forøget med 18 Ccm. For yderligere at konstatere Blærens fuldkomne Tæthed blev den, efter at være tømt, fyldt med 175 Ccm. af det oprindelige Maltudtræk og nedsænket i Cylinderglasset med 100 Ccm. Vand. Overfladerne stode da i nøjagtig samme Højde indeni og udenfor Blæren. Men 2 Dage efter (3. Juni) stod Overfladen inde i Blæren 3 Cm. højere end udenfor, og Vandets Rumfang var formindsket til 75 Ccm. Dette foregik inde i Iskabet.

I efterfølgende Forsøg benævnes som før Væsken inde i Blæren A, Dialysatet udenfor B og det oprindelige Maltudtræk »opr. Mu.«. Der fældedes kun med Stannochlorid.

	Total-N	N i Filtratet fra 10 Ccm. Protein + 10 Ccm. Mu. fældede med Stannochlorid		
		Strax	Efter $2\frac{1}{2}$ Time ved 50^0	Omdannet N
	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.
Oprindeligt Mu.	19,37	15,74	42,68	26,94
A	15,87	12,30	38,18	25,88
B	7,48	8,74	8,72	÷ 0,02

Hvis man regner efter, vil man finde Summen af Totalkvælstofmængden i A og B noget større end i det oprindelige Maltudtræk, idet:

$$\begin{aligned} \text{Total-N i 10 Ccm. A} &= 15,87 \text{ Mgm.}; \text{ i 218 Ccm. da} = 345,97 \text{ Mgm.} \\ \text{— — B} &= 7,48 \text{ —}; \text{ i 82 —} = 61,34 \text{ —} \\ &\text{ialt... 407,31 Mgm.} \end{aligned}$$

men

$$\begin{aligned} \text{Total-N i 10 Ccm. opr. Mu.} &= 19,37 \text{ giver i 200 Ccm. Mu. } 387,40 \text{ —} \\ \text{Diff...} &= 19,91 \text{ Mgm.} \end{aligned}$$

hvorefter c. 20 Mgm. Kvælstof maa hidrøre fra Fiskeblæren, der sandsynligvis ogsaa er bleven paavirket af de proteolytiske Enzymer.

Forøvrigt er Resultatet af disse Forsøg, at tiltrods for den usædvanlig store Fermentevne i det anvendte Maltudtræk, og

skjønt en større Mængde Kvælstof er diffunderet ud end i forrige Forsøgsrække, er der dog ikke nogen kjendelig peptisk Fermentevne at konstatere i Dialysatet, eller at intet peptisk Enzym er diffunderet ud.

Hvis Resultaterne fra første Forsøgsrække ikke skulle henregnes til at falde ind under Grænserne for Forsøgsfejlene, saa maa man som Slutning af begge Forsøgsrækker i hvert Fald sige, at de proteolytiske Enzymer i et Maltudtræk kun i yderst ringe Grad kunne diffundere gennem en dyrisk Hinde som den her anvendte.

Modstandskraft mod ydre Faktorer. 1) Indtørring. — Vil man undersøge Indtørringens Indflydelse paa de proteolytiske Fermenter, maa man naturligvis tillige tage Hensyn til den Temperatur, ved hvilken den er foretagen, saa man her i Virkeligheden har med en dobbelt Faktor at gjøre. Ved Maltens Tilberedning i Praksis undergaar den som bekjendt tilsidst en Indtørring, idet den enten tørres i Luften ved almindelig Temperatur (Luftmalt) eller paa Kølle ved stigende Temperaturer, der f. Ex. paa Gamle Carlsbergs Malteri tilsidst naa op imod 90° — 95° (Kølle-malt). Det er jo ogsaa en bekjendt Sag, at naar Temperaturen stiger langsomt, efterhaanden som Indtørringen finder Sted, kunne Enzympræparater taale en meget højere Temperatur (over 100° , ja indtil 150°), end naar de i fugtig Tilstand pludselig udsættes for en høj Varme. Det er da naturligt at vente at finde den proteolytiske Fermentevne bevaret i Kølle-malt, og i det foregaaende er der ogsaa lejlighedsvis anført Forsøg, som vise, at denne Antagelse er rigtig (se p. 104). Men Spørgsmaalet om, hvorvidt Fermentevnen er svækket eller muligvis forøget (hvilket sidste dog er lidet sandsynligt) under Kølle-tørringen, kan jeg ikke besvare afgjørende, da jeg ikke har forfulgt samme Maltprøves proteolytiske Fermentevne fra Grøn-malt af under de forskellige Stadier af Tørringsprocessen, og jeg i det hele taget ikke har lagt særlig Vægt paa at sammenligne Fermentevnen i mine forskellige Udtræk eller her i Grøn-malt og Kølle-malt. Angaaende dette Spørgsmaal maa jeg indskyde den Bemærkning, at man ved saadanne Sammenligninger kan gaa ud fra forskellige Enheder for Maltudtrækkets Styrke, f. Ex. enten dets Tørstof- eller dets Kvælstofindhold, der muligvis ikke altid ville korrespondere og sikkert ville give ret forskellige Resultater med Hensyn til Fermentevnen. Hvor jeg har søgt at sammenligne Fermentevnen af forskellige Udtræk (f. Ex. ved Undersøgelsen af Fermenternes Optræden under Spiringsprocessen) (se Afsnit V, 1)

er jeg gaaet ud fra Kvælstofindholdet som Enhed, hvad jeg mener vil give de bedste Resultater i dette Tilfælde. I de nedenanførte Forsøg ere Maltudtrækkene tilberedte af Malt og Vand i forskellige Forhold, og deres Kvælstofindhold saa vel som deres Fermentevne have da ogsaa været højst forskellige, hvilket tildels kan bero paa individuelle Forskjelligheder mellem Maltprøverne indbyrdes.

(Forss. 671—680, 1187—1206). Køllemalten blev malet fint og udrørt med forskellige Mængder Vand under hyppig Omrøring i $1\frac{1}{2}$ —1 Time ved almindelig Temperatur. Derpaa Henstand paa Filter i Isskab til næste Dag. Filtratet har dernæst som sædvanlig indvirket paa en mælkesur Proteinopløsning.

	Total-N i 10 Ccm.	N i Filtr. fra 10 Ccm. Mu. + 10 Prot. fældede m. Garvesyre		
	Mu.	Strax	Efter 2 Tim. ved 47°	Omdan. N
	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.
1 Del Malt + 2 D. Vand	22,06	10,74	22,64	11,90
1 - — 4 - —	13,20	7,00	—	—
1 - — 4 - —	10,29	5,74	9,90	4,16
1 - — 4 - — (kogt)	10,28	5,64	5,62	÷ 0,02

Man ser her en meget betydelig tryptisk Fermentevne i det Udtræk, der er tilberedt af 1 Del Malt + 2 Dele Vand, men som i Kvælstofindhold kun staar lidt højere end de almindelige Grønmaltsudtræk, medens dets Tørstofindhold med den store Mængde Sukker maa være langt større (Grønmalten indeholder jo selv c. 50 % Vand). I de Prøver, der ere tilberedte med en til Grønmaltsudtrækkene svarende Vandmængde (1—4), ere saavel Kvælstofindhold som Fermentevne betydeligt lavere end det almindelige, og selvfølgelig er Fermentevnen ganske tabt i den kogte Prøve. (Se forøvrigt ogsaa Forsøgene p. 105).

I en anden Forsøgsrække (881—894) har jeg undersøgt, hvilken Indflydelse Inddampningen til Tørhed af et Grønmaltsudtræk havde paa dettes Fermentevne. Udtrækket blev tilberedt paa sædvanlig Maade af 3 Dele Malt paa 4 Dele Vand og dets oprindelige tryptiske Fermentevne bestemt ved Indvirkning paa Protein i $1\frac{1}{2}$ Time ved 45°, samme Dag som det blev tilberedt. Den var forøvrigt ikke særlig stor. Efter Henstand i Is-

skabet til næste Dag blev 400 Ccm. af Udtrækket (den 9. Januar 1900) anbragte i en 4 Liters Kolbe, der for at undgaa, at Skum gik over, var forbundet med en anden omvendt Kolbe af samme Størrelse, hvorefter der inddampedes ved 20—30 Mm.s Kvægsølvtryk og en Temperatur inde i Kolben, der svingede mellem 30° og 37°, men i Reglen var 31°—32°. I Begyndelsen skummede Væsken meget stærkt. Efter 3 Døgn's Forløb var der kun en sirupstykk Masse tilbage, der tilsidst under stadigt Vakuum inddampedes ved 40°—50° til en fast Skorpe, medens det nøje paa-saaes, at Temperaturen ikke gik over 50°. For at faa Skorpen fjærnet fra Kolben, maatte dennes Bund skjæres ud. Skorpen tørredes nu i Vakuum over Svovlsyre ved almindelig Temperatur fra den 12.—16. Januar, blev derefter pulveriseret fint til et brunt Pulver, og dens tryptiske Fermentevne undersøgte. Den opløstes i forskellige Mængder Vand, der gave meget mørke Opløsninger; 10 Ccm. af disse blandedes med 10 Ccm. af den sædvanlige Proteïnopløsning, og der bestemtes, hvor meget Kvælstof der strax, og hvor meget der efter 1½ Time ved 45° unddrog sig Fældning med Garvesyre.

	N i Filtratet fra Garvesyrefældningen		
	Strax	Efter 1½ Time ved 45°	Omdannet N
	Mgm.	Mgm.	Mgm.
Friskt Maltudtræk	7,24	13,52	6,28
4 % Maltextrakt	5,64	8,48	2,84
8 % —	10,92	16,08	5,16

Man ser, at der er bevaret en forholdsvis betydelig tryptisk Fermentevne under den langvarige Inddampnings- og Indtørningsproces, men de foreliggende Forsøgsdata ere dog ikke tilstrækkelige til at afgjøre, hvor stor Svækkelsen har været. Da Enzymet under Inddampningen har faaet Lejlighed til at indvirke paa selve Maltudtrækkets Æggehvide-stoffer og omdanne dem til Forbindelser, der ikke fældes af Garvesyre, vil de 8 % Maltextrakt vel omtrent svare til det oprindelige Maltudtræks Kvælstofindhold, og Svækkelsen af Fermentevnen har da været ganske ubetydelig.

Alt i alt ses det, at det tryptiske Enzym meget vel taaler Indtørring baade ved højere og lavere Temperaturer, og at det

derfor kan være virksomt tilstede saavel i Køllemalt som i Malt-extraktpræparater, der ere tilberedte ved Inddampning ved lave Temperaturer. Der er da al Grund til at tro, at det peptiske Enzym ogsaa taaler denne Proces, da det jo ellers altid tidligere viste sig mere modstandsdygtig end det tryptiske mod ydre Faktors Indvirkning. Men dette Forhold har jeg endnu ikke undersøgt.

2) Kogning eller Opvarmning i opløst Tilstand til over 70° taaler, som vi have set, intet af de to Enzymer (se p. 38 ff. og p. 110).

3) Udfrysning synes derimod ikke at have nogen særlig skadelig Indvirkning, i hvert Fald ikke paa det tryptiske Enzym, som jeg alene har undersøgt. Snarere er det muligt ved delvis Udfrysning at forstærke et Maltudtræks proteolytiske Fermentevne, idet kun en ringe Del af Enzymet gaar med i det, der først fryser. Efterfølgende Forsøg ere anstillede med 3 forskellige Maltudtræk af forskellig Alder. Denne sidste Faktor har dog sikkert ikke haft nogen svækkende Indflydelse paa Fermentevnen, da Temperaturen har været saa lav (se senere p. 115), men derimod maa man naturligvis regne med de individuelle Forskelligheder mellem de 3 Maltprøver.

(Forss. 76—87). Maltudtrækkene tilberedtes af 1 Del Grøn-malt + 2 Dele Vand. I har været fuldstændig frosset, af II kun Halvdelen, III slet ikke. Smeltningen blev foretaget i Isskabet ved 4° — 5° . 10 Ccm. Maltudtræk + 10 Ccm. Proteinopløsning.

	Maltudtræk- kenes Alder	N i Filtr. fra Garvesyre		
		Strax	Efter 2 T. ved 50°	Omd. N.
		Mgm.	Mgm.	Mgm.
I. { a. Den først smeltede Halvdel	4 Døgn	9,30	15,32	6,02
b. Den sidst smeltede Halvdel	4 —	3,48	4,84	1,36
II. { a. Har ikke været frosset....	2 —	7,76	13,52	5,76
b. Har været frosset	2 —	2,30	3,38	1,08
III. Slet ikke frosset	1 —	6,64	11,72	5,08

Af et Maltudtræk, der har været gennemfrosset, smelter alt-saa først den Del, der bl. a. indeholder det tryptiske Enzym (I), og efter II er det ogsaa den Del, der fryser sidst. Dog har den

først frosne Halvdel (II b) af et Maltudtræk ogsaa en svag tryptisk Fermentevne, i Overensstemmelse med, at en tilsvarende Mængde af Kvælstofindholdet er udfrosset.

4) Belysnings Indflydelse er undersøgt i følgende Forsøg:

I. Række (Forss. 895—914). 13. Marts 1900. Af et Maltudtræk er der, samme Dag som det blev tilberedt, 5: saa snart en tilstrækkelig Mængde var løben igjennem Filtret, taget 3 Portioner. En af disse blev strax stillet i Isskab (i Mørke, som sædvanlig), de to andre hældtes paa gjennemsigtige Flasker, der stilledes mellem de dobbelte Ruder i et Vindue mod Vest fra Kl. 3½ Eftm. til Solnedgang (c. Kl. 6), den ene dog dækket af en sortmalet Paphætte, som Sollyset ikke kunde trænge igjennem, den anden utildækket oven paa Paphætten, for at Temperaturen kunde være nogenlunde ens i begge Flasker. Luften var den Dag ual-

	N i Filtratet		Omdannet
	Strax	Efter 2 Timer ved 47°	N
	Mgm.	Mgm.	Mgm.
i Proven fra Isskabet.....	7,96	18,40	10,44
— fra Mørke-Flasken	6,44	16,84	10,40
— fra Lys-Flasken	6,98 ¹	16,00	9,02

mindelig klar og Himlen fuldstændig skyfri, og den næste Dag var det samme Tilfældet. Flaskerne henstode Dagen efter paa samme Sted til Kl. 2, altsaa i spredt Sollys indtil Kl. 12 og i c. 2 Timers direkte Sollys. I 10 Ccm. af de forskjellige Prøver blandet med 10 Ccm. af en 2 Procents Proteinopløsning fældedes nu strax samt efter 2 Timers Henstand i Vandbad ved 47° med Garvesyre.

Samme Dag (den 14. Marts) blev der af den Prøve, der Natten over havde henstaaet i Isskabet, anbragt en Del i Lys, en anden i Mørke paa samme Maade som ovenfor fra Kl. 2 Eftm. til næste Dag, da der igjen blev eksperimenteret med dem. Jeg fandt da:

¹ Man skulde vente at finde Tallene i denne Kolonne nogenlunde ens. Jeg er ikke rigtig i Stand til at forklare, hvorfor de ikke ere det. Maaske har der været Bakterier med i Spillet, som have oparbejdet Amid-Kvælstof til saadanne Forbindelser, der fældes af Garvesyre.

	N i Filtratet		Omdannet N
	Strax	Efter 2 Timer ved 47°	
	Mgm.	Mgm.	Mgm.
i Prøven fra Mørke-Flasken	8,20	17,26	9,06
— fra Lys-Flasken	8,30	16,60	8,30

II. Række (Forss. 2083—2090). 17. Maj 1901. Et ligeledes friskt tilberedt Maltudtræk henstilledes i smalle Cylinderglas, det ene dækket af den mørke Paphætte, i et Vindue mod Vest fra Kl. 3½ Eftm. til Solnedgang (Kl. c. 8) og Dagen efter i et Par Formiddagstimer i et Vindue mod Syd med stærkt direkte Sollys. Vejret var ligesom den 13.—14. Marts ualmindelig smukt, Luften klar og Himlen skyfri. For at udelukke Bakterievegetation var der til hver Prøve sat 4 Draaber Toluol. Før og efter Forsøgene fældedes der baade med Stannochlorid og Garvesyre.

	Fældnings- middel	N i Filtratet		Omdannet N
		Strax	Efter 2 h. ved 50°	
		Mgm.	Mgm.	Mgm.
Mørke-Prøven	Stannochlorid	12,88	35,08	22,20
— —	Garvesyre	8,92	16,16	7,24
Lys-Prøven	Stannochlorid	12,72	34,24	21,52
— —	Garvesyre	9,36	15,84	6,48

Begge disse Forsøgsrækker bekræfte hinanden og sige, at flere Timers Bestraaling af direkte Sollys om overhovedet saa kun i meget ringe Grad virker svækkende paa den proteolytiske Fermentevne, og at baade det peptiske og tryptiske Enzym forholde sig omtrent ens i saa Henseende. — Dette turde være af Betydning for de for Lyset stærkt udsatte voxende Planter, der, navnlig i ganske ung Tilstand, blive gennemstraalede af Solen. De kunne altsaa uden Hinder ogsaa i Sollyset forrette den nedbrydende Del af deres Æggehvideomsætning. Noget andet er, at denne bliver særlig fremtrædende hos Kimplanter, der voxe i Mørke, ved Ophobning af Asparagin, Glutamin o. l. (Schulze); thi her mangler Be-

tingelserne for Oparbejdelsen af disse Amider til Æggehvdestoffer ved Forening med de kvælstoffrie Kulsyreassimilationsprodukter.

5) Syrsers, Alkaliers og Antiseptikas Indvirkning paa Maltudtrækkets proteolytiske Enzymer er omtalt i Afsnit III, 8, p. 73 ff. Her skal kun erindres om, at det tryptiske Enzym gjen-nemgaaende viste sig langt mere følsomt overfor disse Stoffers, navnlig Antiseptikas, Indvirkning end det peptiske, men forøvrigt henvises der til det paagældende Sted.

6) Henstand (Alder) er Indbegrebet af en Række Faktorer, hvis Virkninger ikke altid ere lette at adskille. Om en Enzym-opløsning er holdbar eller ej, betyder da kun, at den er mod-standsdygtig overfor en fortsat Indvirkning af saadanne Agentier, hvis Tilstedeværelse man i det givne Tilfælde maa regne med, f. Ex. alle de andre opløselige Stoffer, der forekomme naturligt i Forbindelse med Enzymet, og som det ikke er muligt i Praxis at adskille fra det. Hertil høre i det givne Tilfælde f. Ex. de for-skjellige Salte, som findes i et Maltudtræk, eller de Forbindelser, som dannes ved selve Enzymernes Virksomhed, og hertil høre først og fremmest de proteolytiske Enzymer selv, der kunne tænkes enten at destruere hinanden indbyrdes eller endogsaa sig selv, ved Autodigestion. (Det er saaledes kjendt, at det proteolytiske Enzym i Pressesaft fra Gjærceller meget let destruerer Zymasen ved en Fordøjelsesakt). Endvidere maa man regne med Tilstede-værelsen af Bakterier, der enten direkte kunne destruere En-zymerne eller danne saadanne Stofskifte- og Gjæringsprodukter, der ere skadelige for disse. — Skal man udelukke saadanne Virk-ninger, maa man da enten holde Enzymopløsningen ved saa lav en Temperatur, at de kemiske Omsætninger i den, hvad enten de foraarsages af Enzymerne selv, af Bakterier eller paa anden Maade, undertrykkes — og kan man gjøre dette fuldstændigt, turde Fermentevnen ogsaa holde sig usvækket i ubegrænset Tid — eller ogsaa maa man tilsætte saadanne Stoffer, der, som Anti-septika, i hvert Fald forhindre Bakterier i at gjøre Skade. I sidste Tilfælde maa man saa igjen regne med, at selve det anti-septiske Stof ogsaa kan øve en skadelig Indflydelse paa Enzymet. Hvis alle disse Faktorer elimineres, falder efter min Mening ogsaa Begrebet »Alderens Indflydelse«, der jævnlig anvendes i Litteraturen, bort, selv om det ofte praktisk talt er bekvemt at benytte en saadan Betegnelse for at spare sig Opremsningen af en Række underforstaaede Faktorer.

Hvad nu mine Erfaringer angaaende »Alderens Indflydelse« i ovennævnte Forstand paa Maltudtrækkets proteolytiske Enzymer

angaar, saa har jeg tidligere (p. 20 og 95) omtalt, hvor længe man kan bevare Fermentevnen i Maltudtræk ved Tilsætning af Toluol, der dog altid svækker noget, eller ved Afkøling til 0° . Nedsænket i Is holder et Maltudtræk sig saa godt som usvækket i det mindste i over 8 Dage og sikkert endnu meget længere, hvis man kan passe stadig at sætte frisk Is til. Ved 4° — 5° (i et Isskab) indtræder derimod efter nogle Dages Forløb en sur Gjæring, og Fermentevnen tabes fuldstændig, med mindre Bakterierne holdes borte ved Tilsætning af Toluol. Ved en passende Behandling viser altsaa særlig det peptiske, men dog ogsaa det tryptiske Enzym, sig ret holdbart i opløst Tilstand. Hvordan det peptiske Enzym holder sig i tør Tilstand, udfældet ved Alkohol, har jeg ikke undersøgt. (Om det tryptiske, se p. 109 ff.)

3. Indvirkning paa forskellige Æggehvide-stoffer. Ligheder med dyrisk Pepsin og Trypsin.

Det har efterhaanden vist sig, at flere Enzymer ikke virke saa specifikt, som man oprindelig antog, men at samme Enzym endogsaa undertiden kan virke paa tilsyneladende ret fjærnt beslægtede Stoffer. Om man herfra (med Emil Fischer) tør slutte til en vis Overensstemmelse i disse Stoffers molekulære Struktur, skal jeg lade staa hen. Det har da i ethvert Tilfælde sin Interesse at samle saa mange Data som muligt af den Art. Jeg har derfor undersøgt, hvorledes de i Maltudtrækket værende proteolytiske Enzymer forholde sig overfor en Række Æggehvide-stoffer, dels nær beslægtede, dels mere forskellige, indenfor Planteriget, og endelig — hvad der ikke har mindst Interesse — en Del af animalsk Oprindelse. For at faa nogle Holdepunkter for den Udstrækning, i hvilken Omdannelsen foregaar, har jeg til Sammenligning samtidig ladet dyrisk Pepsin og Trypsin virke paa de samme Stoffer. Og endelig har jeg i enkelte Tilfælde ladet dyrisk Pepsin virke ogsaa paa Planteæggehvide-stoffer. Der er saaledes i dette Afsnit blandet flere Spørgsmaal sammen, som maaske hver for sig kunde gøre Fordring paa en særskilt Behandling. Men da jeg synes, de gjensidig belyse hinanden paa flere Maader, og for at undgaa for mange Gjentakelser, tager jeg dem her under et.

Ved denne Forsøgsanstilling har der undertiden vist sig Vanskeligheder deri, at de dyriske Enzymer have deres Optimalpunkter for Temperaturen, Syre- og Alkalikoncentrationen liggende forskjelligt fra de vegetabiliske Enzymers tilsvarende Optimal-

punkter. Og da man dog for at kunne drage nogen fornuftig Sammenligning maa lade de respektive Enzymer virke under de for dem gunstigste Betingelser, er der i nogle af mine Forsøg ogsaa taget Hensyn hertil, saa de enkelte Forsøg indenfor samme Række ere anstillede under noget forskellige ydre Kaar.

Jeg anfører mine Forsøgsrækker i en noget anden Orden end den kronologiske, hvori de ere anstillede, saaledes som det vil fremgaa af Forsøgsnumrene.

I. Række (Forss. 1341—1372). Her undersøgtes samme Maltudtræks Indvirkning paa en Række nærbeslægtede Planteæggehvideoffer, nemlig de af Kjeldahl benævnedes »Glutiner« af forskellige Kornsorter (se p. 24—25), som jeg dog her foretrækker i Almindelighed at benævne Proteiner, og Legumin af Ærter samt paa et dyrisk Æggehvidestof, Kasein (Handelspræparat fra Kahlbaum). Præparaterne af Hvede-, Byg- og Maltproteïn fremstillede jeg selv paa den p. 21 angivne Maade; to efter samme Metode fremstillede Præparater af Rug- og Havreproteïn samt Leguminet bleve mig velvilligst overlodte af min Kollega, Hr. Assistent Carl Pedersen. Der tilberedtes af alle disse Stoffer 2 Procents Opløsninger i 0,4 procentholdig Mælkesyre, og ved 1 Døgn's Henstand ved almindelig Temperatur havde de opløst sig fuldstændigt med Undtagelse af Maltproteïnet, Leguminet og Kaseinet. Det sidste dannede et løst Bundfald med en ovenstaaende klar Væske, Leguminet havde dannet en klar tyk Gelée, isprængt uopløste, hvide Klumper, og Maltproteïnet en gulbrun, uigjennemsigtig Emulsion uden at have afsat Bundfald. (Dette sidste Præparat var sikkert ikke rent.) Ved Opvarmning paa Vandbad gav Leguminet imidlertid en fuldstændig klar Opløsning, Kaseinet en svag Emulsion, medens Maltproteïnet forblev uforandret. Der benyttedes som sædvanligt 10 Ccm. af et friskt Maltudtræk og 10 Ccm. af Æggehvideopløsningerne, og der fældedes strax og efter 2 Timer ved 47° med Garvesyre. Resultaterne gjælde altsaa kun den tryptiske Omsætning. (Se Tab., p. 118).

Mod Forventning fandtes her den svageste Indvirkning paa Maltproteïnet (kun halvt saa stor som paa Leguminet), men maaske dette hidrører fra, at Præparatet, som før nævnt, aabenbart ikke var rent¹. Men heller ikke Bygproteïnet, der dog var et særdeles smukt Præparat, staar særlig højt. Det overgaaes jo endog betydeligt af det dyriske og tungt opløselige Kasein og

¹ Som omtalt p. 22 er det vanskeligt at fremstille og giver kun et ringe Udbytte.

	N i Filtr. fra Garvesyrefældn.		Omdannet N	
	Strax	Eft. 2 T. v. 47°	Ialt	Af Proteinet
	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.
10 Ccm. Mu. + 10 Ccm. 0,4 % Mælkesyre	9,30	11,46	2,16	—
— — — Maltprotein	8,90	16,12	7,22	5,06
— — — Rugprotein	9,20	16,88	7,68	5,52
— — — Bygprotein	8,72	16,88	8,16	6,00
— — — Kasein	9,18	18,20	9,02	6,86
— — — Havreprotein . .	9,24	19,22	9,98	7,82
— — — Hvedeprotein . . .	9,04	20,04	11,00	8,84
— — — Legumin	8,92	21,58	12,66	10,50

staar langt tilbage for Hvedeproteinet. Dette synes saaledes at være et særdeles heldig valgt Objekt til Undersøgelsen af Maltudtrækkets proteolytiske Virkninger i det hele taget, foruden at det ved Fremstillingen giver større Udbytte end de andre Kornsorters Proteiner. At det fra disse ret fjærnt beslægtede Legumin giver langt de største Udslag, er baade mærkeligt og interessant.

Det tryptiske Enzym i spirende Byg, hvorom disse Forsøg jo alene giver Oplysninger, er saaledes langt fra specifikt virkende alene paa Byggets Æggehvideoffer, men virker tværtimod endog kraftigere paa en Række andre tildels fjærntbeslægtede Albuminstoffer, selv om disse endog ere af dyrisk Oprindelse. Af de følgende Forsøgsrækker vil fremgaa, at det foruden paa de her nævnte ogsaa virker paa flere andre, f. Ex. Ægalbumin og Oxefibrin, og at det i visse Henseender ikke staar tilbage for de dyriske proteolytiske Enzymer (Pepsin og Trypsin). Noget lignende gjælder ogsaa for Maltudtrækkets peptiske Enzym.

II. Række (Forss. 931—942, 967—994). Jeg sammenstiller her nogle Forsøg, der ere udførte i 2 Sæt med forskellige Maltudtræk og Pepsinopløsninger (Langebeks Pepsin). Forsøgene med Maltudtræk anstilledes ved 47°, de med Pepsin ved 40°. (Se Tab. p. 119.)

Om det end ikke er berettiget direkte at sammenligne de her anførte Forsøg paa Grund af de forskellige Forsøgsbetingelser, saa give de dog i flere Retninger interessante Vink, som jeg skal henlede Opmærksomheden paa. Senere Forsøg ville supplere disse. Men først maa det erindres, at disse Forsøg, hvor Garvesyre alene er anvendt som Fældningsmiddel, kun give Oplysninger

	N i Filtr. fra Garvesyrefældn.		Omdan- net N
	Strax	Eft. 2 T. v. 47 eller 49 ^o	
Forss. 931—942. 5 ‰ Pepsinopl. ¹	Mgm.	Mgm.	Mgm.
Hvede-Protein-H Cl (0,36 ‰) -Maltudtr.	6,48	16,08	9,60
— — — Pepsin	35,64	43,48	7,84
— Lact (2 ‰) -Mu.	6,48	16,42	9,94
— — — Pepsin	35,64	42,18	6,54
Forss. 967—994. 2 ‰ Pepsinopl.			
Protein-Lact (2 ‰) -Mu.	9,00	19,22	10,22
— — — Pepsin	16,94	19,42	2,48
Kasein — — Mu.	9,00	18,24	9,24
— — — Pepsin	16,94	20,00	3,06
Protein-H Cl (0,9 ‰) -Mu.	9,08	10,64	1,56
— Lact (2 ‰) -Mu.	9,08	19,22	10,14
Protein-H Cl (0,9 ‰) -Pepsin	16,94	20,60	3,66
Kasein — — —	16,94	27,66	10,72
Pepsin-H Cl (0,9 ‰) alene	16,76	18,18	1,42
Mu.-Lact (2 ‰) alene	9,08	11,54	2,46

om Virkningen af Maltudtrækkets tryptiske Enzym, medens det jo er bekjendt, at det dyriske Pepsin kun langsomt fører Nedbrydningen ud over de ægte Peptoner, eller saadanne Stoffer, der endnu fældes af Garvesyren². At jeg derfor helt igjennem har faaet forholdsvis svage Virkninger af Pepsinet, selv overfor Kasein, kan saaledes ikke undre. — Det synes, som en 5 Procents Pepsinopløsning virker betydeligt kraftigere end en 2 Procents, hvad man dog ikke skulde vente, efter hvad der ellers

¹ De i Tabellen anførte Koncentrationer af Syrer gjælde ikke absolut i Pepsinforsøgene, da de vandige Pepsinopløsninger altid reagerede surt. Ved Titring med Fenoltalein som Indikator neutraliseredes 10 Ccm. af en 2 ‰ Pepsinopløsning ved 2,70 Ccm. $\frac{1}{10}$ n. Natriumhydroxydopløsning. I Forsøgene 931—942, hvor Pepsinopløsningen var paa 5 ‰, er Syregraden altsaa forøget betydeligt, og i Forss. 967—994, hvor der anvendtes stærkere Koncentrationer af Saltsyre, er den for Virkningen gunstigste Aciditetsgrænse da maaske allerede overskreden.

² Se Salaskin: Zeitschr. f. physiol. Chemie XXXII, 592 (1901). D. Lawrow, ibid. XXXIII, 312 (1901). Leo Langstein: Beitr. zur chem. Physiol. und Pathol. I, 507 ff. (1902).

foreligger i Litteraturen desangaaende. Men maaske ligger Forklaringen som ovenfor antydet i den mere gunstige Syregrad i de første Forsøg, maaske skal det større Udslag henføres til en stærkere Selvpeptonisering, da en saadan faktisk foregaar. Dog har Maltudtrækkene i alle Forsøgene, baade med Proteïn og Kaseïn, virket kraftigere i den her afdækkede Fase af Proteolysen end Pepsinet, naar undtages Forsøget med Kaseïn-Pepsin-Saltsyre (0,9 ‰). Ved en passende Koncentration af Syre virker Maltudtrækket ligesaa kraftigt paa Kaseïn som paa Hvedeproteïn, medens Pepsinet i langt ringere Grad angriber dette sidste. Der er tillige en paafaldende Forskjel paa Pepsinets Indvirkning paa Kaseïn, eftersom den foregaar i saltsur eller mælkesur Opløsning, idet den er langt svagere i den sidste. Maltudtrækket virker kun ganske svagt ved 0,9 ‰ Saltsyre, medens denne Koncentration er meget gunstig for Pepsinet.

Dels for at undersøge Maltudtrækkets Indvirkning paa endnu et Æggehvidestof, dels for at se, om ikke Pepsinet dog skulde være Maltudtrækket overlegent i de tidligere Faser af Proteolysen (afdækket ved andre Fældningsmidler end Garvesyre), anstilledes følgende Forsøg:

III. Række (Forss. 1487—1540). Der anvendtes her som før Hvedeproteïn og Kaseïn, men Kaseïnet var et Præparat fra Merck, der vanskeligere gik i Opløsning og altid gav en meget uklar Emulsion med enkelte uopløste Fnug. Desuden benyttedes et indtørret Præparat af Ægalbumin, hvoraf dog heller ikke fulde 2 ‰ gik i Opløsning. Hvedeproteïnet opløstes i 0,4 procentholdig Mælkesyre, de to andre i 0,1 procentholdig Saltsyre, saa Forsøgs-væsken altsaa indeholdt henholdsvis 0,2 ‰ Mælkesyre og 0,05 ‰ Saltsyre. Ellers benyttedes det sædvanlige Maltudtræk og en 2 Procents Opløsning af Langebeks Pepsin. Alle Forsøgene anstilledes ved 45°, omtrent midt imellem de to Enzymopløsningers Temperaturoptimum. Som Fældningsmidler benyttedes foruden Garvesyre Mercuridchlorid (Sublimat).

Om Sublimatfældningen¹, der ikke har været omtalt før, maa jeg her forudskikke nogle Bemærkninger. Der anvendtes en omtrent mættet Opløsning (5—7 ‰) af Mercuridchlorid. Da en saadan reagerer stærkt sur, var det nødvendigt før Fældningen at neutralisere, fordi Hvedeproteïnet ellers ikke fældedes kvantitativt. Neutralisation med Fenolftaleïn som Indikator foretoges ved Tildrypning af Kalkvand fra en Burette, indtil den svageste Nuance af Rødt viste

¹ Se Schjerning: Zeitschr. f. anal. Chemie XXXVII, 413 (1898).

sig. Der anvendtes saa altid 10 Ccm. af Sublimatopløsningen, hvorefter Bundfaldet hurtigt satte sig, og den ovenstaaende Væske blev klar. (En Række Kontrollforsøg viste mig, at der ved denne Fremgangsmaade blev udfældet, hvad der kunde udfældes, saa Filtraterne ikke gave Bundfald eller Uklarhed ved yderligere Tilsætning af Sublimat.)

Forss. 1487—1540	Fældnings-middel	N i Filtratet		Omdannet N
		Strax	Efter 2 Timer ved 45°	
		Mgm.	Mgm.	Mgm.
Hvedeprot.-Lact-Mu.	Hg Cl ₂	9,48	26,00	16,52
— — —	Tan.	8,90	20,40	11,50
— — Pepsin ..	Hg Cl ₂	22,96	35,82	12,86
— — — ..	Tan.	16,06	20,90	4,84
Ægalbumin-HCl-Mu	Hg Cl ₂	9,06	12,50	3,44
— — —	Tan.	9,30	13,62	4,32
— — Pepsin ..	Hg Cl ₂	21,36	26,34	4,98
— — — ..	Tan.	15,62	20,36	4,74
Kasein-HCl-Mu.	Hg Cl ₂	9,50	17,66	8,16
— — —	Tan.	9,50	17,02	7,52
— — Pepsin	Hg Cl ₂	22,90	35,22	12,32
— — —	Tan.	16,30	21,90	5,60

Af disse Forsøg ses, at der ved Pepsinets Indvirkning paa Hvedeprotein dannes en betydelig Mængde af Produkter, der unddrage sig Fældning med Sublimat, men fældes af Garvesyre (rimeligvis Peptoner), medens Differensen mellem disse to Fældninger er meget mindre i Forsøgene med Maltudtræk. Det samme Resultat give Forsøgene med Kasein, der i det hele paavirkes kraftigere af Pepsin end af Maltudtræk. Ægalbuminet synes at være lige modstandsdygtig mod begge Enzymopløsningers Angreb, og her er ingen synderlig Forskjel mellem, hvad der unddrager sig Fældning med enten Sublimat eller Garvesyre. Hovedinteressen ved denne Forsøgsrække ligger da i Differenserne mellem Sublimat- og Garvesyrefældningerne, der, som jeg senere vil vende tilbage til, afdekke forskellige Faser i Proteolysen. En Sammenligning mellem et Maltudtræks og et Pepsinpræparats proteolytiske Virkninger fører altsaa let til vildledende Resultater, hvis man blot anvender Garvesyre som Fældningsmiddel, og man kan saaledes af Maltudtrækkets gennemgaaende Overlegenhed i den af dette Fæld-

ningsmiddel afdækkede Fase ikke slutte noget bestemt om den proteolytiske Fermentevne i de to Opløsninger. I saa Henseende turde de følgende Forsøg, hvor Sammenligningen med dyrisk Trypsin er dragen, i baade hvad jeg kalder den peptiske og den tryptiske Fase af Proteolysen, have større Interesse.

IV. Række (Forss. 2339—2368). — I disse Forsøg undersøgtes Maltudtrækkets Indvirkning paa Oxefibrin saavel ved sur som ved alkalisk Reaktion, og til Sammenligning lod jeg et Pankreasudtræk (Trypsin) virke paa det samme Stof ved alkalisk Reaktion. Maltudtrækket var tilberedt paa samme Dag, som det anvendtes, og i de Forsøg, der anstilledes ved alkalisk Reaktion, blev det neutraliseret paa følgende Maade. Da det var fundet, at 10 Ccm. af det krævede 2,4 Ccm. $\frac{1}{10}$ n. Natriumhydroxydopløsning, for at Fenoltaleïn kunde fremkalde et netop kjendeligt rødligt Skær, blev der til 97,6 Ccm. Maltudtræk sat 2,4 Ccm. $\frac{1}{1}$ n Natriumhydroxyd, og det benyttedes nu strax uden Frafiltrering af den svage Uklarhed, der fremkom ved Neutralisationen. Fibrin og Pankreasudtræk havde jeg samme Dag, den 13. Decbr., da det var stærk Frost, modtaget friske fra Prof., Dr. med. Bohrs Laboratorium (ved Velvillie fra Hr. Assistent, Magister Aug. Kroghs Side), og de bleve strax benyttede til Forsøg. Af det vandige Pankreasudtræk modtog jeg to Prøver, af hvilke den ene var mættet med Chloroform; denne anvendtes til de langvarige Forsøg (24 Timer), den chloroformfrie til de korte (2 Timer); begge reagerede neutralt. Fibrinet, der laa i Chloroformvand, blev før Benyttelsen presset, skyllet flere Gange med rent Vand, derefter igjen presset, tilsidst mellem Filtrerpapir, og endelig klippet i smaa Stykker. Det blev ikke afvejet til de enkelte Forsøg, men efter Skjøn brugtes der lige meget af det i alle Prøverne. Det bragtes nu i Kolber med 10 Ccm. af henholdsvis 0,4 procentholdig Mælkesyre og 0,27 procentholdig Natriumcarbonat (c. $\frac{1}{20}$ n.), og da der hertil føjedes 10 Ccm. enten af Maltudtræk eller Pankreasudtræk, blev Koncentrationerne af Syre og Alkali henholdsvis 0,2 og 0,135 %. I Mælkesyren svulmede Fibrinet hurtigt op og blev gjennemsigtigt som Gelé; i Natriumcarbonatopløsningen forblev det indskrumpet. — Forsøgene anstilledes ved 47°; nogle varede i 2, andre i 24 Timer; til alle de alkaliske Prøver blev der sat en rigelig Mængde Toluol; alle Kolberne vare tillukkede med Prop under Forsøgstiden. Der fældedes med Stannochlorid og Garvesyre. I en særlig Rubrik i hosstaaende Tabel er anført, hvilke synlige Forandringer Fibrinet var undergaaet ved Forsøgenes Slutning.

	Fæld- nings- middel	Strax	Efter 2 Timer ved 47°				Efter 24 Timer ved 47°			
		N i Filtratet	N i Fil- tratet	Omdannet N		Synlige Foran- dringer af Fibrinet	N i Fil- tratet	Omdannet N		Synlige Forandringer af Fibrinet
				Ialt	Af Fi- brin			Ialt	Af Fibrin	
		Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.		Mgm.	Mgm.	Mgm.	
Mu.-Fibr.-Lact	Sn Cl ₂	—	19,04	6,00	4,44	{ Fibrinet delvis opløst.	29,73	16,69	13,55	{ Fibrinet saa at sige fuld- stændig opløst. Ingen Traade mere, derimod lidt Bundfald
— — —	Tan.	—	13,14	5,74	2,74		22,70	14,30	8,54	
Mu.-Lact	Sn Cl ₂	13,04	14,60	1,56	—	{ Fibrinet ufor- andret.	16,18	3,14	—	{ Fibrinet uforandret.
— —	Tan.	8,40	11,40	3,00	—		14,16	5,76	—	
Mu.-Fibr.-Soda . . .	Sn Cl ₂	—	11,88	0,40	0,68	{ Kun en ringe Del af Fibrinet opløst.	12,88	1,40	1,48	{ Alle Traade opløste. Væsken mælket.
— — —	Tan.	—	7,64	0,44	0,24		8,80	1,60	1,04	
Mu.-Soda	Sn Cl ₂	11,48	11,20	(÷) 0,28	—	{	11,40	(÷ 0,08)	—	{
— —	Tan.	7,20	7,40	0,20	—		7,76	(0,56)	—	
Trypsin-Fibr.-Soda	Sn Cl ₂	—	7,38	5,96	5,78	{	36,40	35,28	35,04	{
— — —	Tan.	—	2,92	1,40	1,52		17,53	16,29	16,85	
Trypsin-Soda	Sn Cl ₂	÷ Chlf. + Chlf. 1,42 1,12	1,60	0,18	—		1,36	0,24	—	
— —	Tan.	1,52 1,24	1,40	(÷) 0,12	—		0,68	(÷ 0,56)	—	

Af disse Forsøg fremgaar det, at de proteolytiske Enzymer i Maltudtrækket ogsaa ere i Stand til at omdanne Oxefibrin i ret vid Udstrækning, saaledes at de, hvad de tryptiske Omdannelsesprodukter (som jeg her kort vil kalde Amin-Amidkvælstof i Mod-sætning til de peptiske, Albumosekvælstof) angaar, endogsaa overgaa Pankreasenzymet i de 2 første Forsøgstimer, og, hvad Albumosedannelsen angaar, kun staa lidt tilbage for dette. Rigtignok virke de bedst ved sur Reaktion og saa godt som ikke ved alkalisk, hvad der strider mod den af Windisch & Schellhorn¹ fremsatte, men ikke begrundede Paastand, at Maltpeptase skulde virke bedst paa Æggehvideoffer af dyrisk Oprindelse ved alkalisk Reaktion. Efter 24 Timer har Trypsinet af Fibrinet dog dannet langt mere baade af Albumose- og af Amin-Amidkvælstof end Maltudtrækket, men dette sidste har ogsaa efter de 24 Timer dannet forholdsvis mere Amin-Amidkvælstof end Albumosekvælstof, hvad der egentlig er ret mærkeligt. Det synes her, som om Maltudtrækket kun er i Stand til at omdanne en vis Mængde af Fibrinet, og mindre end Trypsinet, til Albumoser, ved hvis videre Nedbrydning Forholdet mellem den peptiske og tryptiske Virksomhed forskydes.

Foruden denne Forsøgsrække har jeg anstillet endnu et Par enkelte Forsøg over Maltudtrækkets og Pankreasudtrækkets Indvirkning paa Fibrin, som har en Del Interesse. Den 14. Decbr. 1901 anbragte jeg 5,8 Gm. udvasket Fibrin i 110 Ccm. Maltudtræk med 0,2 % Mælkesyre og stillede det med et tykt Lag Toluol over hen ved 42°—43° (A). Samme Dag bragtes nogle Fibrintraade i et Pankreasudtræk med 0,12 % Soda og Chloroform ved samme Temperatur (B). Den 16. Decbr. var Fibrintraadene i A faldne hen i Fnug og havde for Størstedelen lejet sig som Bundfald; i B var alt Fibrin opløst, og Væsken næsten klar. I de følgende Dage svandt Bundfaldet i A stedse noget, men var dog ikke helt forsvundet ved Udgangen af Januar Maaned 1902; B var paa 3die Dagen fuldstændig klar og holdt sig saaledes, idet der dog afsattes et ringe hvidligt Bundfald. Den 16/12, 17/12, 19/12, 20/12, 26/12, 30/12, 16/1 og 20/1 prøvedes Tryptofanreaktionen paa B ved at gjøre den svagt eddikesur og tilsætte et Par Draaber Bromvand, men stadig med negativt Resultat; der kom kun et gult Bundfald, der ikke opløste sig i Amylalkohol og ikke gav nogen som helst violet Farvetone. Da jeg derimod den

¹ Se Windisch & Schellhorn Wochenschr. für Brauerei XVII, 535 (1900) eller J. R. Green: »Die Enzyme«, übersetzt v. Windisch p. 210 Anm. Berlin (1901).

16. Januar tilfældig gjorde Prøven ogsaa i det med Fibrin henstillede Maltudtræk, hvor jeg ikke havde ventet at faa positivt Resultat, fremtraadte der den smukkeste og mest udprægede Tryptofanreaktion: med Eddikesyre og Bromvand en dyb, violet Farve, der optoges af Amylalkohol. Hvorfor Trypsinforsøget ikke har givet denne Reaktion, kan jeg ikke forklare, men naar den fremtræder saa tydelig i Forsøget med Maltudtræk, turde dette vel tyde paa, at der heri er foregaaet en »ægte« tryptisk Proces, der har ført til Dannelsen af det Proteinochromogen, der ellers karakteriserer den tryptiske Fordøjelsesproces.

4. De proteolytiske Spaltningsprodukter.

Der er næppe noget Omraade af den organiske Kemi, hvor der for Tiden hersker saa megen Usikkerhed som ved Karakteriseringen og den derpaa hvilende Systematisering af de forskellige Æggehvide-stoffer og deres primære Spaltningsprodukter (Albumoser, Peptoner). Man ved knapt, hvad man i de givne Tilfælde skal anse for det egentlige Æggehvide-stof, om man muligvis kun har en Del af det oprindelige Æggehvide-stofmolekule for sig, eller om der foreligger en Forbindelse af dette med et andet Stof, en saakaldet prosthethisk Gruppe eller Sidekæde (A. Kossel¹), af organisk eller uorganisk Natur. Grunden hertil er, at man ikke har noget sikkert Kriterium paa det rene Æggehvide-stof, selv ikke i de — nu ret hyppige — Tilfælde hvor man kan faa det til at krystallisere. Forskellige Albuminer, som Serum-, Æg- og Laktalbumin, danner saaledes Krystaller, der ere indbyrdes isomorfe (Wichmann²), medens disse Albuminer dog afvige saa stærkt fra hinanden i deres elementære Sammensætning, at der ellers ikke kan være Tale om noget Identitet; og Krystaller af det samme Æggehvide-stof (Oxyhæmoglobin eller Ægalbumin eller Edestin af Hampefrø) kunne afvige saa meget indbyrdes i deres elementære Sammensætning, at man heraf intet som helst kan slutte om, hvorledes det rene Stofs Sammensætning er (Fr. N. Schulz³).

¹ A. Kossel: Ueber die gegenwärtigen Stand der Eiweisschemie. Vortrag geh. vor der Deutsch. chem. Gesellsch. 1. Juni 1901. Ber. d. d. chem. Gesellsch. XXXIV, 32 (14. Okt. 1901).

² A. Wichmann: Ueber die Krystalformen der Albumine. Zeitschr. f. physiol. Chemie XXVII, 592 (1899).

³ Fr. N. Schulz: Die Krystallisation von Eiweissstoffen und ihre Bedeutung für die Eiweisschemie. Gustav Fischer. Jena. 1901.

Man ved undertiden end ikke, hvorledes man skal adskille genuine Æggehvidestoffer fra deres primære Spaltningsprodukter.

Den indbyrdes Adskillelse mellem de forskellige Grupper af Æggehvidestoffer eller deres Omdannelsesprodukter bygges da for Tiden paa mere eller mindre konstante Forhold: 1) Deres elementære Sammensætning og her navnlig deres Indhold af Kvælstof (Svovl og Fosfor); 2) deres fysiske Egenskaber (Opløselighed, Koagulationsevne, Udsaltningsbetingelser, Diffusionsevne, optiske Aktivitet osv.); 3) hvilke Sønderdelingsprodukter de give ved Indvirkning af Syrer, Alkalier, Enzymer o. l.; 4) hvorledes de forholde sig overfor forskellige kemiske Fældningsmidler, og 5) hvilke Farvereaktioner de give.

Vil man vide, hvorledes et proteolytisk Enzym kvalitativt virker, o: hvilke Spaltningsprodukter der opstaa under dets Indvirkning paa de Æggehvidestoffer, som det er i Stand til at omdanne, vil man snart finde, at Spørgsmaalet er vanskeligt at besvare blot nogenlunde tilfredsstillende. For det første er det muligt og sandsynligt, at det paa forskellige Æggehvidestoffer (f. Ex. de i forrige Afsnit nævnte) virker baade kvantitativt og kvalitativt forskelligt, og dernæst er man aldrig sikker paa, om de Æggehvidestoffer, hvorfra man gaar ud, ogsaa virkelig ere rene, kemiske Individuer. Og endelig, saa længe man ikke har fremstillet selve Enzymet i ren Tilstand, ville en Del af de fundne Produkter (bl. a. saadanne, der give sig til Kjende ved bestemte Farvereaktioner) ogsaa kunne hidrøre fra Urenheder i det anvendte Enzympræparat.

Hertil kommer, at en Proteolyse — netop som den her behandlede —, der fører Sønderdelingen af Æggehvidestofferne ud over Peptonstadiet (til Hexonbaser, Amider, Aminer osv.), er en overordentlig sammensat Proces. Vel træffer man her paa Forbindelser, der ere langt bedre karakteriserede end de før nævnte, idet man for en stor Del af dem kjender deres Konstitutionsformler, og de danner typiske Krystaller eller tungtopløselige Forbindelser, men samtidig i et Proteolyseforsøg at gjøre saavel kvantitative som kvalitative Bestemmelser af alle eller blot flere af disse enkelte Stoffer er med vore nuværende analytiske Metoder ganske umuligt. At kunne løse en saadan Opgave har vel næppe nogen endnu drømt om, og jeg mindst af alle. Men naar jeg dog ogsaa har forsøgt at give et lille Bidrag til Besvarelsen af den kvalitative Side af Proteolysespørgsmaalet, har jeg med Vilje her begrænset mig saa meget som muligt og i Stedet for at undersøge i Detailler, hvilke enkelte karakteristiske Stoffer, der ere fremkomne under de her behandlede Enzymers Virksomhed, har jeg indskrænket mig til blot

at søge at adskille dem gruppevis, saaledes som det lader sig gjøre ved Udsaltning og Dialyse eller ved Anvendelsen af forskellige Fældningsmidler. Derimod har jeg tillagt Farvereaktioner en meget ringe Betydning til Adskillelse af kvalitativt forskellige Grupper, og jeg har derfor kun ganske lejlighedsvis ogsaa bragt denne Metode i Anvendelse ved Siden af de andre.

Den nøjere Bestemmelse af de dyberegaaende krystallinske Spaltningsprodukter ved Renfremstilling af Præparater har jeg slet ikke indladt mig paa. Men det, der for mig syntes at have den største baade teoretiske og praktiske Interesse i det foreliggende Spørgsmaal, var at faa at vide, hvor meget og hvilke af de primære Omdannelsesprodukter (Albumoser og Peptoner) der dannedes i Sammenligning med alle de andre (Hexonbaser, Amider osv.) tagne under ét, og hvorledes dette indbyrdes Forhold forskødes under forskellige Forsøgsbetingelser. Og for at faa Oplysninger herom, har jeg benyttet mig 1) af nogle af de Fældningsmidler, om hvilke det angives i Litteraturen, at de fælder de og de Stofgrupper, men ikke de og de, 2) af et Udsaltningsmiddel og 3) af Diffusionsmetoden.

Nu maa det dog strax indskydes, at der langt fra hersker Enighed om, hvilke Stoffer der fældes af de enkelte Fældningsmidler, og at Fældningsbetingelserne naturligvis spille den allerstørste Rolle i saa Henseende. Men hvad enten jeg tyder mine Resultater rigtigt eller galt, mener jeg, at de dog faa deres Værdi derved, at jeg altid, saa vidt det overhovedet var muligt, har foretaget mine Fældninger under de samme Fældningsbetingelser, altid har benyttet det samme Æggehvidestof (Hvedeprotein) som Udgangsmateriale og anvendt Maltudtræk, der altid vare fremstillede paa samme Maade, og idet jeg indenfor samme Forsøgsrække har varieret Betingelser for selve Enzymernes Virksomhed, har jeg bestemt kvantitativt, hvor meget Kvælstof der samtidig har unddraget sig Fældning med flere forskellige Fældningsmidler. Mine Resultater faa da altid i det mindste en relativ Værdi.

A. Samtidig Anvendelse af flere Fældnings- (og Udsaltnings)midler.

I det foregaaende er der anført mange Forsøgsrækker, hvori der samtidig er anvendt Stannochlorid og Garvesyre til Fældning, en enkelt, hvor der tillige er benyttet Zinksulfat og Uranacetat samt Magnesia til Afdestillation af Ammoniak (se p. 58—60), og endelig en Forsøgsrække, hvor der som Fældningsmiddel er benyttet Mer-

curidchlorid (se p. 120). Medens jeg ogsaa i dette Afsnit kommer tilbage til Forsøgsresultaterne, henviser jeg, hvad Operationernes Udførelse angaar, til de paagjældende Afsnit. Her bliver da kun at beskrive endnu en Fældningsmetode, som ikke før er omtalt, nemlig

Fældning med Fosfor-Wolframsyre. Af dette Stof benyttedes en 10 Procents Opløsning i 5 Procents Saltsyre, og det undersøgte først, hvor meget der medgik til en fuldstændig Fældning af Maltudtræk og Hvedeprotein i den sædvanlige Koncentration. Det viste sig her, at 10 Ccm. Maltudtræk + 10 Ccm. Hvedeproteinopløsning gav en lige stor og fuldstændig Fældning med 10, 20 og 30 Ccm. Fosfor-Wolframsyre, o: yderligere Tilsætning af denne til Filtratet gav hverken Bundfald eller Uklarhed. Der anvendtes da altid 20 Ccm. af Fosfor-Wolframsyreopløsningen, fortyndedes som sædvanligt med Vand til 50 Ccm., og Kvælstofbestemmelsen udførtes i Halvdelen af Filtratet.

I. Række (Forss. 1373—1400). Udsaltnings¹ med Zinksulfat og Fældning med Garvesyre (Tan) og Fosfor-Wolframsyre (F.-W.) i henholdsvis 10 Ccm. Maltudtræk og 10 Ccm. Maltudtræk + 10 Ccm. Hvedeproteinopløsning før og efter 2 Timers Henstand ved 47°.

Total N i 10 Ccm. Mu. = 19,62 Mgm.

	Fældet med	N i Filtratet		Omdannet N
		Strax	Efter 2 T. ved 47°	
		Mgm.	Mgm.	Mgm.
10 Ccm. Mu.	Zn SO ₄	"	"	"
— —	Tan.	9,68	12,62	2,94
— —	F-W	7,28	8,28	1,00
10 Ccm. Mu. + 10 Ccm. Prot.	Zn SO ₄	12,72	24,86	12,14
— — — —	Tan.	9,66	19,46	9,80
— — — —	F-W	6,40	10,66	4,26

Det ses altsaa, at de 3 Fældningsmidler fælder meget forskellige Mængder af det samlede Kvælstofindhold. Men før jeg begynder at diskutere Betydningen heraf, skal jeg anføre nogle flere Forsøg.

¹ For Kortheds Skyld regner jeg i det følgende ogsaa Zinksulfat med til »Fældningsmidlerne«.

II. Række (Forss. 1405—1442). Samme Fældningsmidler som i I. Række. Men Forsøgene anstilledes ved forskellige Temperaturer og afbrødes efter 3 Timers Forløb.

Total N i 10 Ccm. Mu. = 19,21 Mgm.

				N i Filtratet		Omdannet N
				Strax	Efter 3 Timer ved	
				Mgm.	Mgm.	Mgm.
10 Ccm. Mu. + 10 Ccm. Prot.	Zn SO ₄	10,76			11,96	1,20
— — — —	Tan.	9,32	4°		9,46	0,14
— — — —	F-W	6,24			6,40	0,16
— — — —	Zn SO ₄	10,76			14,20	3,44
— — — —	Tan.	9,32	19°		11,42	2,10
— — — —	F-W	6,24			6,80	0,56
— — — —	Zn SO ₄	10,76			19,24	8,48
— — — —	Tan.	9,32	31°		16,04	6,72
— — — —	F-W	6,24			9,74	3,50
— — — —	Zn SO ₄	10,76			25,64	14,88
— — — —	Tan.	9,32	47°		21,94	12,62
— — — —	F-W	6,24			12,88	6,64
— — — —	Zn SO ₄	10,76			20,16	9,40
— — — —	Tan.	9,32	60°		17,02	7,70
— — — —	F-W	6,24			10,44	4,20

Af disse Tal er der ikke direkte konstrueret Kurver, men sammenlign Tavle XIII og XIV for næste Forsøgsrække, hvor Resultaterne af Fosfor-Wolframsyrefældningerne ere anførte som en punkteret Linje.

III. Række (Forss. 1561—1612) anstilledes ved de samme Temperaturer som II. Række, men der anvendtes her to andre Fældningsmidler, Stannochlorid og Sublimat, foruden Zinksulfat og Garvesyre, derimod ikke Fosfor-Wolframsyre. Forsøgstiden var ogsaa her 3 Timer. (Se Tabellen p. 130).

Disse Resultater ere ogsaa fremstillede grafisk paa Tavlerne XIII og XIV. Paa den første af disse ere Kurverne tegnede efter Tallene i 4de Kolonne i Tabellen (N i Filtratet efter 3 Timer), hvorved der faaes et Billede af, hvorledes de forskellige Fældningsmidler i et givet Øjeblik dele den samlede Forsøgsvæske ved forskellige Temperaturer. Paa den sidste Tavle anskueliggjøres det, hvor meget Kvælstof, udtrykt i absolutte Tal, der i Forsøgstiden og

Total N i 10 Ccm. Proteinopl. 33,22 Mgm.

— i 10 — Mu..... 20,40 —

ialt... 53,26 Mgm.

	Fældet med	N i Filtratet		Omdannet N
		Strax	Efter 3 Timer ved	
		Mgm.	Mgm.	Mgm.
10 Ccm. Mu. + 10 Ccm. Prot.	Sn Cl ₂	15,84	21,18	5,34
— — — —	Hg Cl ₂	9,86	4° 11,40	1,54
— — — —	Zn SO ₄	11,60	12,10	0,50
— — — —	Tan.	10,04	10,54	0,50
— — — —	Sn Cl ₂	15,84	28,90	13,06
— — — —	Hg Cl ₂	9,86	19° 16,02	6,16
— — — —	Zn SO ₄	11,60	14,56	2,96
— — — —	Tan.	10,04	13,28	3,24
— — — —	Sn Cl ₂	15,84	40,12	24,28
— — — —	Hg Cl ₂	9,86	31° 23,80	13,94
— — — —	Zn SO ₄	11,60	21,76	10,16
— — — —	Tan.	10,04	20,34	10,30
— — — —	Sn Cl ₂	15,84	43,86	28,02
— — — —	Hg Cl ₂	9,86	47° 29,70	19,84
— — — —	Zn SO ₄	11,60	27,62	16,02
— — — —	Tan.	10,04	24,94	14,90
— — — —	Sn Cl ₂	15,84	42,98	27,14
— — — —	Hg Cl ₂	9,86	60° 24,76	14,90
— — — —	Zn SO ₄	11,60	23,60	12,00
— — — —	Tan.	10,04	19,98	9,94

ved den paagjældende Temperatur er bleven saaledes omdannet, at det unddrager sig Fældning med de samme Fældningsmidler (efter Tallene i 5. Kolonne af Tabellen). Men hvad enten Resultaterne udtrykkes paa den ene eller den anden Maade, vil man se, at Kurverne for Sublimat, Zinksulfat og Garvesyre forløbe saa godt som parallelt og nær ved hinanden. Stannochloridkurven er derimod langt fjærnet fra de andre, og naar den fra 47°—60° løber omtrent parallelt med Abscisseaxen, betyder det, at den relativt lange Forsøgstid (3 Timer) har været tilstrækkelig til, at Reaktionen ogsaa ved den ellers ugunstigere Temperatur, 60°, har kunnet naa ligesaa vidt som ved den gunstigere, 47°, hvor den nemlig i Hovedsagen er ført til Ende allerede inden de 3 Timers

Forløb. (Sml. Forss. p. 132). Da Maltudtrækkene i denne og forrige Forsøgsrække have haft omtrent ens Kvælstofindhold og omtrent samme Fermentevne, naar man ser paa Fældningerne med Zinksulfat og Garvesyre, kan man med en vis Berettigelse til Sammenligning overføre Kurven for Fosfor-Wolframsyrefældningen fra II. Række som gjort paa Tavle XIII og XIV. Man faar da et mere anskueligt Overblik over, hvorledes de forskellige Fældningsmidler dele en Forsøgsvæske som den her anvendte, efter at de proteolytiske Enzymer have virket en vis Tid ved forskellige Temperaturer.

Hvad der i denne Forsøgsrække syntes mig at have den største Interesse, var den Højde, hvortil Stannochloridkurven var naaet (ved 47° og 60°), samt den store Afstand mellem denne og de andre Kurver. Der rejste sig da et Par Spørgsmaal, som jeg fik Lyst til at forfølge videre: 1) hvor vidt den Proces, der afdækkes ved Stannochloridkurven, havde naaet sit Maximum efter de 3 Timers Forsøgstid, og herunder, hvor meget af det da endnu fældbare Kvælstof der maatte tænkes at stamme fra Proteinet, hvor meget fra det anvendte Maltudtræk; eller 2) om en længere Forsøgstid vilde faa de forskellige Kurver til efterhaanden at nærme sig hinanden mere og mere. Til Besvarelsen heraf skulde de to følgende Forsøgsrækker give Bidrag.

IV. Række (Forss. 1613—1668). Foruden Forsøg med den sædvanlige Blanding af Hvedeprotein og Maltudtræk anstilledes der Autodigestionsforsøg med Maltudtræk alene, kun tilsat dets lige Rumfang Vand med 0,4 % Mælkesyre. Som Fældningsmidler anvendtes kun Stannochlorid og Zinksulfat, der benyttedes samme Temperaturer som i forrige Række (kun 33° i Stedet for 31°), og Forsøgene afbrødes efter 3 Timers Forløb; ved 47° lod jeg dog ogsaa nogle vare i 4 og 5 Timer.

Foruden i omstaaende Tabel (p. 132) ere Resultaterne ogsaa anskueliggjorte ved Kurverne paa Tavle XV.

Det ses, at den Proces, der afdækkes ved Stannochloridfældningen, virkelig omtrent har naaet sit Maximum efter de 3 Timer (se forøvrigt næste Række), og at over Halvdelen (3,66 af 6,84 Mgm.) af det endnu efter 5 Timer fældbare Kvælstof findes i selve Maltudtrækket, i hvilket der forøvrigt ikke er sket større Omdannelser i denne Retning fra den 3dje til den 5te Forsøgstime, end hvad der kan skrives paa Forsøgsfejlenes Regning (3dje Time 15,24, 4de Time: 15,24, 5te Time: 15,44). Den ringe Afstand mellem Stannochlorid og Zinksulfatkurverne i Forsøgene med Maltudtræk alene viser, at de Stoffer, der maa maales ved denne Af-

Total N i 10 Ccm. Proteinopl. 33,74 Mgm.
 — i 10 — Mu..... 19,10 —
 ialt... 52,84 Mgm.

	Fældet med	N i Filtratet		Omdannet N
		Strax	Efter 3 Timer ved	
		Mgm.	Mgm.	Mgm.
10 Ccm. Mu. + 10 Ccm. Prot.	Sn Cl ₂	16,20	4° { 22,38	6,18
— — — —	Zn SO ₄	10,44	11,20	0,76
— — — —	Sn Cl ₂	16,20	19° { 29,72	13,52
— — — —	Zn SO ₄	10,44	13,02	1,58
— — — —	Sn Cl ₂	16,20	33° { 42,86	26,66
— — — —	Zn SO ₄	10,44	21,36	10,92
— — — —	Sn Cl ₂	16,20	45,04	28,84
— — — —	Sn Cl ₂	16,20	47° { 44,84 (4 Tim.)	(28,64) (4 Tim.)
— — — —	Sn Cl ₂	16,20	46,00 (5 —)	(29,80) (5 —)
— — — —	Zn SO ₄	10,44	26,60	16,16
— — — —	Sn Cl ₂	16,20	60° { 40,32	24,12
— — — —	Zn SO ₄	10,44	18,60	8,16
10 Ccm. Mu.	Sn Cl ₂	12,70	4° { 13,06	0,36
— —	Zn SO ₄	10,20	10,52	0,32
— —	Sn Cl ₂	12,70	19° { 13,52	0,82
— —	Zn SO ₄	10,20	11,38	1,18
— —	Sn Cl ₂	12,70	33° { 13,48	0,78
— —	Zn SO ₄	10,20	12,76	2,56
— —	Sn Cl ₂	12,70	15,24	2,54
— —	Sn Cl ₂	12,70	47° { 15,24 (4 Tim.)	(2,54) (4 Tim.)
— —	Sn Cl ₂	12,70	15,44 (5 —)	(2,74) (5 —)
— —	Zn SO ₄	10,20	13,80	3,60
— —	Sn Cl ₂	12,70	60° { 14,24	1,54
— —	Zn SO ₄	10,20	12,70	2,50

stand, i Forsøgene med Hvedeprotein maa være dannede for aller-
 største Delen af dette.

V. Række (Forss. 1711—1776). Forsøgsanstillingen er nøje be-
 skreven p. 58—60, hvorfor der her kun skal erindres om, at der som
 Fældningsmidler benyttedes Stannochlorid, Zinksulfat, Garvesyre og
 Uranacetat, foruden at der afdestilleredes Ammoniak med brændt
 Magnesia, samt at Forsøgene udstraktes fra 1—48 Timer. For
 Overskuelighedens Skyld aftrykker jeg igjen Tabellen over For-

søgsresultaterne og henviser forøvrigt til Tavle V foruden til den delvise Tydning af Forsøgene, som er given p. 61.

Total N i 10 Ccm. Proteinopl. 31,46 Mgm.

— i 10 — Mu..... 18,84 —

ialt... 50,30 Mgm.

Forss. 1711—1776	Stannoehlorid		Zinksulfat		Garvesyre		Uranacetat		Magnesia	
	Mgm. N		Mgm. N		Mgm. N		Mgm. N		Mgm. N	
	I Filtratet	Omdannet pr. Time	I Filtratet	Omdannet pr. Time	I Filtratet	Omdannet pr. Time	I Filtratet	Omdannet pr. Time	I Destillatet	Dannet pr. Time
Efter 0 Timer	15,62	—	11,60	—	10,48	—	9,64	—	1,06	—
— 1 —	40,40	24,78	18,64	7,04	16,96	6,48	20,12	10,48	1,35	0,29
— 2 —	42,36	1,96	24,28	5,64	21,16	4,20	24,84	4,72	—	—
— 3 —	43,76	1,40	25,24	0,96	23,52	2,36	26,74	1,90	2,84	0,75
— 4 —	43,72	÷0,04	28,54	3,30	24,80	1,28	27,24	0,50	—	—
— 5 —	43,76	0,04	30,04	1,50	25,80	1,00	28,80	1,56	—	—
— 6 —	44,68	0,92	31,52	1,48	27,04	1,24	29,00	0,20	3,42	0,19
— 9 —	45,16	0,16	34,12	0,87	31,16	1,37	32,20	1,07	—	—
— 12 —	45,28	0,04	37,96	1,28	34,96	1,27	33,92	0,57	4,48	0,18
— 24 —	45,76	0,04	40,44	0,21	38,04	0,26	—	—	4,76	0,02
— 48 —	45,32	÷0,02	43,88	0,15	41,08	0,13	38,28	0,12	5,20	0,02

B. Diffusionsforsøg.

Jeg søgte her at bestemme: 1) hvor meget diffusibelt Kvælstof der dannedes ved et Maltudtræks Indvirkning paa Hvedeprotein i en given Tid ved Enzymernes Optimumstemperatur, og 2) hvorledes det ikke-diffusible Kvælstof var forskjelligt før og efter denne Indvirkning (Proteolyse) i Henseende til Koagulationsevne og i dets Forhold til Opløsningsmidler som Vand og Mælkesyre eller Fældningsmidler som Stannoehlorid og Garvesyre.

Forsøgsanstillingen var følgende. I et friskt Maltudtræk og i en Proteinopløsning gjordes Bestemmelser af Total-Kvælstof og af den Mængde Kvælstof, der strax unddrog sig Fældning med Stannoehlorid og Garvesyre. Dernæst toges to Portioner, hver à 50 Ccm. Maltudtræk + 50 Ccm. Proteinopløsning, hvoraf den ene (den passive Prøve) strax, den anden (den aktive Prøve) først efter 3 Timers Henstand ved 50° opvarmedes til 90° i cirka 10 Minutter for at

destruere de proteolytiske Enzymer. I begge Prøver udskilte der sig ved Opvarmningen en Del koagulabelt Æggehvidestof stammende fra Maltudtrækket. De anbragtes derefter i hver sin for Tæthed nøje undersøgte Fiskeblære, der stilledes i store Cylinderglas (1 Liter) med destilleret Vand i Højde med Væskeoverfladen inde i Blæren. Da dennes Indhold herved pressedes sammen, blev der en saa meget større Membran at diffundere igennem. For at hindre Bakterievegetation hældtes der noget Formaldehyd i Blæren, og dette gjentoges, hver Gang der skiftedes destilleret Vand i Cylinderglassene, hvilket i Reglen fandt Sted hver anden Dag. Dialysaterne opsamledes omhyggeligt og inddampedes i flade Skaale efter Tilsætning af lidt concentreret Svovlsyre, hvorefter deres Indhold af Kvælstof bestemtes¹. Efter at Dialysen havde varet fra d. 17. til d. 31. Maj (1901), blev Blærerne skaarne op og deres Indhold sprøjtet af, hvilket forøvrigt gik meget let. Begge Prøverne blev filtrerede; den aktive gav da et fuldstændig vandklart Filtrat, men den passive et opaliserende, der kun langsomt gik gennem Filtret. Efter Fortynding til et bestemt Rumfang (350 Ccm.) gjordes de nedenanførte Bestemmelser i dem². Det uopløste Indhold behandledes under Opvarmning med 100 Ccm. 0,4 procentholdig Mælkesyre, hvorved af begge Prøver en Del gik i Opløsning, dog forholdsvis lidt af den aktive Prøve. I disse mælkesure Opløsninger gjordes Bestemmelser af Total-Kvælstof og af den Mængde

¹ Da jeg paa Forhaand ikke kunde vide, hvor meget Kvælstof der fandtes i de første Dialysater, men der sandsynligvis var mere, end det var bekvemt at arbejde med efter Kjeldahls Metode, gik jeg her frem paa følgende Maade. Inddampningsresten digereredes med 20 Ccm. conc. Svovlsyre og 6 Spatler Kobberilte i 7 Timer. Derefter iltedes der med 5—6 Spatler manganoversurt Kali, hvorved Indholdet i Kolberne stivnede til en aldeles fast, rødgraa Masse, der senere kun ved Opvarmning lod sig opløse i Vand. Opløsningen hældtes gennem et Filter ned i en 200 Ccm.s Maalekolbe, hvorved den gav et klart Filtrat med et svagt grønligt Skjær (af manganure Salte). Efter omhyggelig Udvaskning af de paa Filtret tilbageblevne Manganilter fyldtes der op til Mærket, og af Filtratet toges nu 2×50 Ccm. til Kvælstofbestemmelser. Filtret med Manganilterne bragtes ned i den Kolbe, der var anvendt til Digestionen med conc. Svovlsyre, af hvilken der igjen tilsattes nogle Draaber foruden noget fast Oxalsyre, hvorved Væsken klarede, og der destilleredes med Natriumhydroxyd. Det viste sig dog, at der ikke var noget Kvælstof i Manganilterne.

² De i denne stærkt fortyndede Opløsning foretagne Fældninger, navnlig Fældningen med Stannochlorid, tør man dog ikke tillægge nogen exakt Værdi, da Fældningsbetingelserne jo her var ganske andre end sædvanligt.

Kvælstof, der unddrog sig Fældning med Stannochlorid og Garvesyre. I de i Mælkesyre uopløselige Rester med tilsvarende (udvaskede) Filtre bestemtes Kvælstofindholdet.

Forsøgene gave nu følgende Resultater:

Den anvendte Forsøgsvæske indeholdt oprindelig:

i 10 Ccm. Maltudtræk	18,46 Mgm. N,	o: i 50 Ccm.	92,30 Mgm. N
i 10 — Proteinopl.	30,30 —	— 50 —	151,50 —
ialt i 100 Ccm. 243,80 Mgm. N			

Heraf fældedes med Stannochlorid	173,80 Mgm. N
— — — Garvesyre	199,20 —
— diffunderede ud i Løbet af 14 Dage	60,92 —

Som nævnt p. 133 blev en Portion paa 100 Ccm. (50 Ccm. Mu. + 50 Ccm. Prot.) strax opvarmet til 90° i 10 Minutter (den passive Prøve), en anden lige saa stor først, efter at den havde staaet ved 50° i 3 Timer (den aktive Prøve), hvorefter begge Portioner underkastedes 14 Dages Dialyse.

Dialysen forløb paa følgende Maade:

	i den passive,	i den aktive Prøve
Fra 15.—17. Maj diffunderede ud...	44,16 Mgm. N	84,96 Mgm. N
- 17.—19. — — —	9,00 —	25,96 —
- 19.—21. — — —	2,74 —	9,20 —
- 21.—23. — — —	1,52 —	5,85 —
- 23.—25. — — —	1,10 —	4,40 —
- 25.—29. — (4 Døgn) —	1,44 —	5,92 —
- 29.—31. — — —	0,96 —	2,80 —
ialt... 60,92 Mgm. N 138,99 Mgm. N		

Dialysen var saaledes ikke ført helt til Ende, hvad den — teoretisk set — jo først vilde blive efter et uendelig langt Tidsrum, og navnlig i den aktive Prøve vilde en kendelig Mængde Kvælstof endnu være diffunderet ud, hvis den var ført videre.

Konstruerer man Kurver af de to Talrækker (se Tavle XVI) ville de vise sig at forløbe omtrent parallelt, og man kunde ved Hjælp af disse tilnærmelsesvis beregne, hvor meget diffusibelt Kvælstof, der efter Forsøgets Afslutning endnu maatte være tilbage i Blærerne. Men holder man sig til de anførte direkte fundne Tal, vil man se, at det er en betydelig Mængde (78,07 Mgm.) Kvælstof, der er gjort diffusibelt i Løbet af de 3 Timer ved 50°. Reduceret til den almindelig anvendte Mængde Forsøgsvæske (20

Ccm.) bliver det 15,61 Mgm. Kvælstof eller godt og vel den Mængde, der i samme Forsøgstid sædvanlig unddrager sig Fældning med Garvesyre (se f. Ex. Tab. p. 130).

Ved de Bestemmelser, der gjordes af det Kvælstof, som efter Dialysen var blevet tilbage i Blærerne, fandtes:

	i den passive,	i den aktive Prøve
Af i Vand opløsel., men ikke diffusib. N	92,40 Mgm.	65,10 Mgm.
— uopløsel., i Mælkesyre opløsel.	24,40 —	2,88 —
— og Mælkesyre uopløsel.....	53,60 —	22,48 —
	170,40 Mgm.	90,46 Mgm.
Lægges hertil diffusibelt N =	60,92 —	138,99 —
faaes ialt...	231,32 Mgm.	229,45 Mgm. ¹

Det ses af disse Tal, at en betydelig Mængde af det i Forsøgsvæsken oprindeligt tilstedeværende opløselige, men ikke diffusible, Kvælstof er blevet diffusibelt under Proteolysen, og at det oprindeligt koagulable og efter Koagulationen (ved³ Opvarmning til 90° i 10 Minuter) i Vand og Mælkesyre uopløselige Kvælstof ogsaa er blevet for Størstedelen overført i en opløselig og ikke koagulabel Form, saaledes at det, der er forbleven uomdannet efter Proteolysen, hverken er opløseligt i Vand eller i Mælkesyre, naar det først er bleven bragt til at koagulere.

Som nævnt foretoges der Fældninger med Stannochlorid og Garvesyre i de Bestanddele af Blærerens Indhold (efter Dialysen), der enten vare i Opløsning eller lode sig opløse ved Behandling med Mælkesyre. Disse Fældninger gave følgende Resultater:

I den passive Prøve:	Fældedes med
	Stannochlorid Garvesyre
Af 92,40 Mgm. i Vand opl., men ikke diffus. N	11,76 Mgm. 86,52 Mgm.
- 24,40 — — uopl., i Mælkesyre opl.-	19,12 — 23,12 —

I den aktive Prøve:	
Af 65,10 Mgm. i Vand opl., men ikke diffus. N	6,30 Mgm. 60,62 Mgm.
- 2,88 — — uopl., i Mælkesyre opl.-	1,76 — 2,88 —

¹ Naar disse to Tal ikke stemmer med det for den oprindelige Forsøgsrække angivne Tal for Total-Kvælstof (243,80 Mgm.), maa der erindres om, at de mange Bestemmelser i Kvotadele af de forskellige Fraktioner rumme saa mange smaa Fejlkilder, der tilsammen snart vilde kunne udgjøre de manglende 10—12 Milligram, at man paa Forhaand ikke kunde vente en bedre Overensstemmelse.

Da Fældningsbetingelserne ved den stærke Fortynding (se p. 134) ere blevne helt andre end de sædvanlige, tør man sikkert ikke lægge nogen for stor Vægt paa de her fundne Tal. Kun synes det mig at have Interesse at se, at Garvesyren udfælder næsten fuldstændig det Kvælstof, der ikke er diffunderet ud. Differenserne kunne maaske netop omtrent svare til den Mængde af i og for sig diffusibelt Kvælstof, der ikke var diffunderet ud, da Dialysen afbrødes.

Dialyseforsøgene have saaledes givet en mere eller mindre fyldestgørende Besvarelse paa de Spørgsmaal, der opstilledes p. 133.

Ser man nu paa, hvad alle disse Fældnings- og Diffusionsforsøg oplyse om de proteolytiske Spaltningsprodukters Natur, kan der vel udledes ikke saa ganske lidt af mine Forsøg, naar man sammenholder dem med de Resultater, andre Forskere ere komne til med Hensyn til Adskillelsen af forskellige Stoffer eller Stofgrupper ved de her anvendte Metoder. Men den omfangsrige Litteratur desangaaende, hvori der desværre kun findes altfor mange Modsigelser, maner til en vis Varsomhed med at drage Slutninger. Naar den ene Forsker har ment i et Fældningsmiddel at have fundet en Metode til at adskille bestemte Stoffer, har der i Reglen altid hurtigt mældt sig en anden, der mente at kunne paavise, at det samme Fældningsmiddel delte efter andre Skillelinjer, naar der f. Ex. benyttedes et andet Stof som Udgangsmateriale, eller Fældningsbetingelserne paa et eller andet Punkt varierede. Og da netop det af mig anvendte Æggeghvidestof, Hvedeproteinet, endnu ikke er gennemarbejdet med Hensyn til de Spaltningsprodukter, det giver under forskellige Agentiers Indflydelse, mener jeg, det vilde være forhastet at drage vidtgaaende og detaillerede Sammenligninger mellem mine Resultater og, hvad andre har fundet for andre Æggeghvidestoffer ved Benyttelsen af de samme Fældningsmidler, som jeg har anvendt. Jeg skal derfor indskrænke mig til at drage nogle faa Hovedlinjer ved Grupperingen af de proteolytiske Spaltningsprodukter, væsentligst støttende mig til, hvad man i Almindelighed er enig om i saa Henseende.

Om Anvendelsen af Stannochlorid som Fældningsmiddel foreligger der i Litteraturen — saa vidt mig bekjendt — kun, hvad Schjerning har meddelt i en Række Afhandlinger¹, og da han i det hele taget synes mig at være den Forsker, der omhyggeligst

¹ I Fresenius' Zeitschr. f. anal. Chemie. Se forøvrigt Citaterne p. 30.

og mest systematisk har gennemarbejdet forskellige Fældningsmidlers Værdi til Adskillelse af Æggehvdestofferne og deres Spaltning produkter, netop hvor det gjælder at drage Skillelinjerne mellem Hovedgrupperne af disse, kan jeg for Størstedelen indskrænke mig til at anføre hans Angivelser, selv om jeg ikke paa alle Punkter mener at kunne samstemme med ham.

Stannochlorid fælder da — efter Schjerning — kun virkelige Albuminstoffer og, for saa vidt som hans Benævnelser »Albumin I« og »Albumin II« vel maa dække over saadanne, endda ikke dem alle, da det sidstnævnte f. Ex. ikke fældes. Og naar, som nævnt p. 23 og 31, det af mig anvendte Hvedeproteinpræparat ikke fældes fuldstændig, men kun c. 95 % heraf, kunde dette maaske finde sin Forklaring i, at det ikke var fuldstændig ensartet, men indeholdt c. 5 % af andre Stoffer. Selvfølgelig er der under en Proteolyse ikke Tale om, at ét ægte Albuminstof omdannes til et andet, saa naar det efterhaanden unddrager sig Fældning med Stannochlorid, maa det bero paa en Nedbrydning, der vel i de første Stadier er en Hydrolyse. At det ikke er en almindelig Syntonindannelse¹, derpaa tyder bl. a. det Forhold, at denne Omdannelse slet ikke foregaar ved Temperaturer over 70° (se p. 41), men hvorvidt vi ere naaede til Dannelsen af ægte Albumoser, saa snart Stannochlorid ikke længere fælder, derom drister jeg mig ikke til at udtale mig bestemt, selv om jeg mener, man lige saa godt kan benytte denne Benævnelse som nogen anden, saa længe Albumoserne ikke ere bedre karakteriserede, end Tilfældet er i Øjeblikket. Med dette Forbehold vil jeg da i det følgende — som ogsaa sket enkelte Gange i det foregaaende — tale om, at Stannochloridkurverne drager Skillelinjen mellem de ægte Albuminstoffer og Albumoserne. Er dette Tilfældet, vil man ved Hjælp af Stannochlorid og det andet i disse Forsøgsrækker ret ofte anvendte Fældnings- eller Udsaltningsmiddel, Zinksulfat, have faaet Midler i Hænde til direkte at maale og saaledes forfølge Albumosedannelsen under en Proteolyse, idet saa vidt mig bekjendt alle Forskere ere enige om, at Zinksulfat i mættet Opløsning paa samme Maade som Ammoniumsulfat og Magniumsulfat adskiller Albumoserne fra de ægte Peptoner, eller — rettere sagt — man netop adskiller disse Stoffer ved deres Forhold til disse Fældningsmidler, der ikke udfælder de ægte Peptoner.

¹ Syntoninerne eller Acidalbuminerne skulle (efter O. Cohnheim: *Chemie der Eiweisskörper*, Braunschweig 1900, p. 88) vise ganske de samme Fældnings- og Farvereaktioner som de egentlige Æggehvdestoffer.

Det var A. Bömer, der i 1895 første Gang¹ og senere i Forbindelse med K. Baumann² paaviste denne Lighed mellem Ammoniumsulfat og Zinksulfat i deres Forhold til Albumoserne, og dette var af saa meget større Betydning, som man ved Anvendelsen af det sidste undgaar den Korrektion for Kvælstof, som det første medfører. Senere har navnlig E. Zunz³ bekræftet Bömers Angivelser, ligesom Schjerning⁴ har faaet samme Resultater med Zinksulfat som med Magniumsulfat. Paa disse Angivelser benyttes Zinksulfat nu af flere andre Forskere, saa det i Øjeblikket er i Færd med helt at fortrænge Ammoniumsulfat ved kvantitative Albumosebestemmelser.

Om Sublimatets Betydning hersker der derimod større Uenighed. W. Kühne⁵ og R. Neumeister⁶ angive f. Ex., at det fælder fuldstændigt alle proteïnagtige Spaltningsprodukter, ogsaa Peptoner, og Schjerning⁷, at det tillige medtager Ammoniaksalte af organiske Syrer; men da det i mine Forsøg⁸ endogsaa har givet ringere Fældninger end Zinksulfat og altsaa ikke en Gang har medtaget alle Albumoserne, tør jeg af Litteraturangivelserne intet slutte om Kvaliteten af det Kvælstof, det fælder.

Med Hensyn til Betydningen af Garvesyrefældningen foreligger der i Litteraturen lige saa lidt oplyst. J. Sebelien⁹ er vel den, der grundigst har bearbejdet dette Fældningsmiddel, idet han (efter Almén¹⁰) benyttede en Opløsning af 4 Gm. Tannin i 190 Ccm. 40—50 procentholdig Alkohol, tilsat 8 Ccm. 25 procentholdig Eddikesyre. Han anfører som Resultat af sine Undersøgelser f. Ex.: »Lige saa fuldstændig en Udfældning man faar med Garvesyre af de egentlige Æggehvidestoffers Opløsninger, lige saa ufuldstændig bliver Bundfældningen, naar man har at gjøre med de saakaldte peptonagtige Stoffer, baade virkelige »Peptoner«

¹ A. Bömer: Zeitschr. für analytische Chemie XXXIV, 562 (1895).

² A. Bömer & K. Baumann: Zeitschr. f. Unters. der Nahrungs- u. Genussmittel, I, 106 (1898).

³ E. Zunz; Zeitschr. f. physiol. Chemie XXVII, 219 (1899) og XXVIII, 132 (1899).

⁴ H. Schjerning: Zeitschr. f. anal. Chemie XXXV, 296 (1896).

⁵ W. Kühne: Zeitschr. f. Biologie XXII, 423 (1885).

⁶ Rich. Neumeister: ibid. XXVI, 234 (1890).

⁷ H. Schjerning: Zeitschr. f. anal. Chemie XXXIX, 553 (1900).

⁸ Jeg har her fulgt Schjernings Metode og neutraliseret med Kalkvand før Fældningen.

⁹ J. Sebelien: Danske Vidensk. Selskabs Oversigt 1888, p. 81—126 og Zeitschr. f. physiol. Chemie XIII, 142 (1888).

¹⁰ Almén: Upsala läkara förenings förhandlingar, 1870.

og »Albumoser«¹; samt at »rent Pepton opløses fuldstændig i Overskud af Garvesyre«. Hvor rigtigt end dette kan være for det Materiale, hvormed Sebelien har arbejdet (Spaltningsprodukter af Hønsæggehvide, Kasein og Laktalbumin), saa tør disse Resultater dog næppe generaliseres. Selv har jeg iagttaget, at et Overskud af Garvesyre er i Stand til at gjenopløse noget af det en Gang udfældede Bundfald af et Gjørudtræk (af selvfordøjet Gjør, som indeholdt store Mængder af proteolytiske Spaltningsprodukter), men de Forsøg, jeg anstillede for at finde Fejlgrænserne for Garvesyrefældningerne, og som jeg udførlig har omtalt tidligere (se p. 26—29), have tydelig vist, at i det her omhandlede Tilfælde (Spaltningsprodukter af Hvedeprotein) gjenopløses der intet af det en Gang fældede Kvælstof, selv i stort Overskud af Garvesyre. Og at dette ikke hidrører fra, at jeg har benyttet en vandig Opløsning af Garvesyre (5 0/0), fremgaar af de ovennævnte Forsøg med Gjør-ekstrakt, hvor samme Opløsning benyttedes.

I Modsætning til Sebelien er jeg endvidere af den Anskuelse, at Garvesyren fælder ret fuldstændig baade Albumoser og ægte Peptoner, i hvert Fald dem, jeg har arbejdet med. Et Blik paa Kurverne (Tavle XIII og XIV) viser jo, at der altid fældes mere af Garvesyre end af Zinksulfat, og en Sammenligning med Uranfældningerne, som jeg strax skal omtale, tyder paa, at Garvesyrefældningen paa det nærmeste maa betegne Skillelinjen mellem de endnu proteinagtige (peptiske) og de dyberegaaende (tryptiske) Spaltningsprodukter af Hvedeprotein og Maltudtræk, hvilket ogsaa støttes af mine Dialyseforsøg (se p. 136), hvor Garvesyren jo fældede saa godt som alt det Kvælstof, der var i Opløsning men ikke var diffunderet ud af Blæren.

Jeg skylder dog endnu at tilføje, at Schjerning², der blandt andet ogsaa har arbejdet med Urt (omend altsaa ikke med netop Grønmaludtræk og Hvedeprotein), erklærer sig enig med Sebelien og mener, at Garvesyre kvantitativt kun fælder egentlige Albuminstoffer. — Kun Paastanden om, at Garvesyre i Overskud gjenopløser det en Gang fældede, kan jeg bestemt bevise ikke gjælder ved mine Forsøg, men forøvrigt indeholder disse jo ikke det exakte Bevis for, at virkelig alle Albumoser og Peptoner ere udfældede, skjønt jeg synes, at mine Kurvers Forløb (navnlig naar de sammenlignes med andre Fældningskurver) taler stærkt derfor. Men at

¹ J. Sebelien: Videnskabernes Selskabs Oversigt 1888, p. 94.

² H. Schjerning: Zeitschr. für anal. Chemie XXXIX, 562 (1900).

det er en forholdsvis dybtgaaende Fase i Proteolysen, omtrent beliggende ved Grænsen mellem Peptonerne og de ikke-proteinagtige Spaltningsprodukter, der afdækkes ved Garvesyrekurverne, vil der dog vist næppe kunne rejses Tvivl om.

Om Uranacetat angiver Schjerning¹, at det fælder alle proteinagtige Forbindelser fra Peptoner opefter, og tillige, naar der er en større Mængde Fosforsyre tilstede, saadanne ikke-proteinagtige Stoffer som Asparagin, Arginin og Piperazin. I de Forsøg (Nr. 1711—1776, se p. 133), hvor jeg ogsaa anvendte dette Fældningsmiddel, falder Uran-Kurven (se Tavle V) i Løbet af de første 3—4 Forsøgsterimer omtrent sammen med Zinksulfat-Kurven og ligger højere (d. v. s. der fældes mindre) end Garvesyre-Kurven. Efter 3½ Time bøjer den nedad fra Zinksulfat-Kurven og skjærer efter c. 10 Timer Garvesyre-Kurven, hvilke to forøvrigt hele Tiden løbe omtrent parallelt, og efter 48 Timers Forløb er den sunket længere under Garvesyre-Kurven, end denne da ligger under Zinksulfat-Kurven. I Maltudtrækket findes der vel en Del Fosfater, men dog ikke mere end f. Ex. i Urt, og efter Schjerning² ikke saa meget, at det kan have nogen kjendelig Indflydelse i Retning af Fældning af ikke-proteinagtige Forbindelser; i Reglen vil da Uranacetat drage Skillelinjen mellem disse og Peptonerne. Hvis dette er rigtigt, og selv om der fældes en ringe Mængde af Amider og Hexonbaser paa Grund af Fosfaternes Tilstedeværelse, vil altsaa ogsaa Uranfældningen paa det nærmeste ligesom Garvesyrefældningen adskille netop de Spaltningsprodukter, der ligge over og under de ægte Peptoner.

At Fosfor-Wolframsyren foruden proteinagtige Forbindelser fælder flere dyberegaaende proteolytiske Spaltningsprodukter (Hexonbaser, Monoaminer, Ammoniak m. m.), er almindelig antaget³. I Overensstemmelse hermed har jeg ogsaa fundet Kurven for Fosfor-Wolframsyren — der angiver, hvor meget Kvælstof, der unddrager sig Fældning — liggende meget lavere end Kurverne for alle de øvrige anvendte Fældningsmidler og tilmed saa langt under Garvesyre-Kurven, at Forskjellen ikke kan hidrøre fra Ammoniak alene, men ogsaa maa tilskrives de andre krystallinske Spaltningsprodukter.

Destillationen med Magnesia vil give Oplysning om, hvor meget Kvælstof der er nedbrudt til Ammoniak, da der ved den kortvarige Destillation (c. 10 Minutter) ikke kan være Tale om, at den anvendte Mængde Magnesia har fraspaltet Kvælstof, der ikke forud var tilstede som Ammoniak.

¹ H. Schjerning: Zeitschr. f. anal. Chemie XXXIX, 545 (1900).

² H. Schjerning: Zeitschr. f. anal. Chemie XXXIX, 556 (1900), Tab. IV.

³ Se bl. a. Fr. Kutscher: Zeitschr. f. physiol. Chemie XXXI, 215 (1900).

Efter hvad der her er udviklet, skulde man da ved samtidig Anvendelse af flere Fældningsmidler omtrent kunne bestemme, hvor meget der under en Proteolyse dannes af Albumoser (Differensen mellem Stannochlorid- og Zinksulfatfældningen), af ægte Peptoner (Differensen mellem Zinksulfat og Garvesyre eller Uranacetat) og dyberegaaende Spaltningsprodukter (Amider, Aminer, Hexonbaser, Ammoniak, m. m., ved hvad der undrager sig Fældning med Garvesyre eller Uranacetat). Og naar jeg i det foregaaende som oftest har benyttet samtidig Stannochlorid og Garvesyre, skulde jeg da ved disse Fældningsmidler have fundet et omtrentligt Udtryk for den peptiske og den tryptiske Virksomhed (i den Betydning, hvori jeg benytter disse Benævnelser, se p. 35) under Proteolysen.

Ser man da paa en Forsøgsrække som f. Ex. Forss. 1711—1776 (se p. 133 og Tavle V), hvor Proteolysen er forfulgt gennem 48 Timer ved Hjælp af 4 forskellige Fældningsmidler og Destillation med Magnesia, er det paafaldende, hvor intensiv og hurtigt forløbende Albumosedannelsen er, idet den efter 3—4 Timer omtrent har naaet sit Maximum, men at Peptonerne kun synes at være til Stede i ringe Mængde som et Gjennemgangsled til en dyberegaaende Sønderdeling, der langsomt fortsættes, indtil omtrent alt det Kvælstof, der lader sig omdanne ved denne Proces, er nedbrudt saa vidt, at det ikke længere fældes hverken af Garvesyre eller Uranacetat, medens samtidig endog ret betydelige Mængder af det er bleven omdannet til Ammoniak.

De Forsøg, der ere anstillede ved forskellige Temperaturer, vise tillige, at de forskellige Virksomheder foregaa stadig i omtrent samme indbyrdes Forhold, idet de forskellige Fældningskurver løbe omtrent parallelt. Naar blot Stannochloridkurven synes at afvige noget fra de andre, kommer det, som før nævnt, af, at den anvendte Forsøgstid (3 Timer) har været noget for lang til Bestemmelsen af denne Kurve, hvis nøjagtigere Forløb tidligere er bestemt ved kortere Forsøgstid (se pag. 41). Hvad der er værd at lægge Mærke til, er, at Albumosedannelsen gaar livligt for sig allerede ved saa lave Temperaturer som 4° og 19° , medens de andre Virksomheder først tage Fart over 19° — 20° . Naar der i Forsøg med Maltudtræk alene (uden Hvedeprotein) viser sig at være saa ringe en Afstand mellem Stannochlorid- og Zinksulfatkurven, der ved gunstigere Temperaturer yderligere formindskes (som Forss. 1613—1668, Tavle XV, vise), tyder dette paa, at Størstedelen af Maltudtrækkets kvælstofholdige Bestanddele allerede under Spiringen ere nedbrudte næsten saa meget,

som det overhovedet er muligt, og at der ialt Fald efter 3 Timers Henstand ved en for Proteolysen gunstig Temperatur vil findes meget lidt baade af Albumoser og Peptoner, da disse nu ere nedbrudte videre. —

Diffusionsforsøgene synes mig paa en smuk Maade at bekræfte Fældningsforsøgene og at støtte de Slutninger, jeg har uddraget af disse. Ved Forsøgets Begyndelse findes der i 100 Ccm. Forsøgsvæske 243,80 Mgm. Totalkvælstof, hvoraf 70,00 Mgm. undrage sig Fældning med Stannochlorid (hovedsagelig hidrørende fra de 50 Ccm. Maltudtræk med 92,30 Mgm. Totalkvælstof). Efter 3 Timer ved 50° er Forsøgsvæsken bleven saaledes omdannet, at der i Løbet af 14 Dage diffunderer 78,07 Mgm. mere ud af den aktive end af den passive Prøve, medens en anden vel nok saa stor Del af Kvælstoffet (en nøjagtig Bestemmelse var her umulig) er bleven saaledes omdannet, at den ikke længere fældes af Stannochlorid, men saa godt som fuldstændig af Garvesyre. Hvad der diffunderer ud, vil da for Størstedelen være krystallinske Forbindelser tillige med ringe Mængder af ægte Peptoner, medens Albumoserne hovedsagelig ville være holdte tilbage i Blæren.

V.

ENZYMERNES FØRSTE OPTRÆDEN OG DANNELSE.

1. Spiringsstadiet.

Windisch & Schellhorn¹ angive, at der allerede i det uspirede Bygkorn (»rohe Gerste«) findes et proteolytisk Enzym i ringe Mængde, og at det i slet høstet (udvoxet) eller æggehviderigt Byg kan forekomme i anselige Mængder. Under Udblødningen finder der ingen kjendelig Forøgelse af Enzymindholdet Sted, men denne indtræder strax ved Spiringens Begyndelse og tiltager nu bestandig, indtil Kimplanten er bleven grøn. I æggehviderige Bygsorter indtræder Enzymdannelsen hurtigere end i æggehviderfattige.

Efter at jeg flere Gange forgjæves havde søgt ved Hjælp af Garvesyrefældningen at konstatere en proteolytisk Enzymvirkning i uspiret Byg, anstillede jeg en større Forsøgsrække for at finde, paa hvilket Stadium af Maltningsprocessen en saadan vilde vise

¹ Windisch & Schellhorn: Wochenschr. für Brauerei XVII, 452 (1900).

sig. Jeg anvendte her ogsaa kun Garvesyrefældningen og har saaledes kun forfulgt det tryptiske Enzyms Udvikling. Muligvis vilde jeg være kommen til lignende Resultater som de Herrer Windisch & Schellhorn, om jeg havde benyttet en anden Metode (se næste Afsnit, om Zymogener).

Mine Prøver bleve tagne fra Gl. Carlsbergs pneumatiske Malteri i 3 forskellige Sæt, henholdsvis den 6., den 12. og den 18. Novbr. 1900, men jeg forvissede mig om, at det stadig var samme Bygprøve (betegnet »Kerteminde«, med hollandsk Vægt 115) i forskellige Spiringsstadier.

Prøver udtoges saaledes:

Den 6. November.

0 af lufttørt Korn.

I af Korn efter 1 Døgns Udblødning (fra $\frac{5}{11}$ Kl. 11 til $\frac{6}{11}$ Kl. 11)				
II	—	2	—	(- $\frac{4}{11}$ — - $\frac{6}{11}$ —)
III	—	3	—	(- $\frac{3}{11}$ — - $\frac{6}{11}$ —)
lige efter Udtømn. af Støbekarret)				
IV	—	1	—	Spiring (fra $\frac{2}{11}$ Kl. 11 til $\frac{6}{11}$ Kl. 11)
V	—	2	—	(- $\frac{1}{11}$ — - $\frac{6}{11}$ —)

Den 12. November.

VI	af Korn efter 3 Døgns	—	(- $\frac{6}{11}$ — - $\frac{12}{11}$ —)
VII	—	4	— (- $\frac{5}{11}$ — - $\frac{12}{11}$ —)
VIII	—	5	— (- $\frac{4}{11}$ — - $\frac{12}{11}$ —)
IX	—	6	— (- $\frac{3}{11}$ — - $\frac{12}{11}$ —)
X	—	7	— (- $\frac{2}{11}$ — - $\frac{12}{11}$ —)
XI	—	8	— (- $\frac{1}{11}$ — - $\frac{12}{11}$ —)

Da Spiringen i Malteriet ellers afbrydes paa den 9. Spiringdag, fortsattes den nu paa den Maade, at Prøverne anbragtes i Sigter, der boredes ned i Maltdyngerne saaledes, at der blev suget samme Mængde Luft gennem dem som gennem den øvrige Malt. Desuden blev Sigternes Indhold vendt (»kastet«) til samme Tider som den øvrige Malt, og Spiringen fortsattes saaledes endnu i 5 Døgn, idet der udtoges Prøver.

Den 18. November:

XII af Korn efter 9 Døgns Spiring (fra $\frac{9}{11}$ Kl. 11 til $\frac{18}{11}$ Kl. 11)				
XIII	—	10	—	(- $\frac{8}{11}$ — - $\frac{18}{11}$ —)
XIV	—	11	—	(- $\frac{7}{11}$ — - $\frac{18}{11}$ —)
XV	—	12	—	(- $\frac{6}{11}$ — - $\frac{18}{11}$ —)
XVI	—	13	—	(- $\frac{5}{11}$ — - $\frac{18}{11}$ —)

De forskellige Prøver havde naturligvis et højest forskelligt Vand- og Tørstofindhold, hvorfor det blev nødvendigt i hver enkelt at foretage Bestemmelser heraf. Dette gjordes saaledes, at de fugtige Prøver (tagne fra Støbekarrene) anbragtes paa en Tragt med Filtrepapir, overdækket af en Glasplade, indtil Vandet var dryppet af dem, hvorefter der strax afvejedes den Mængde af hele Korn, som skulde benyttes til Bestemmelsen. Denne foretoges paa sædvanlig Maade ved Opvarmning i Vakuum ved 105° til konstant Vægt.

Men for at faa et brugeligt vandigt Udtræk maatte de forskellige Prøver behandles noget forskelligt, da den sædvanlige Knusning i Kjødhakkemaskine ikke lod sig anvende for dem alle. Det lufttørre Korn blev malet fint paa en Kværn, Prøverne II—IV gik først 3 Gange gennem Kjødhakkemaskinen, hvorefter de bleve yderligere knuste og stødte i Stykker ved en omhyggelig Bearbejdelse i en Morter¹, Prøverne V og VI fik allerede ved Passagen gennem Kjødhakkemaskinen en grødagtig Karakter og knustes derfor ikke yderligere, og Resten af Prøverne blev ved denne Behandling af samme Beskaffenhed som det Materiale, jeg ellers arbejdede med ved Fremstillingen af mine Maltudtræk.

For saa vidt muligt at gøre Udtrækkene lige »stærke«, maatte der naturligvis sættes forskellige Mængder Vand til de forskellige Prøver. Der blev da altid sat netop saa meget til, som ved en Beregning skønnedes at være 3 Gange saa meget som Prøvens Tørstofmængde, idet jeg til Grund for denne Beregning lagde tidligere Bestemmelser af lignende Art. Efter nogle Omrøringer henstilledes Prøverne i Isskabet til næste Dag. Derefter rørttes endnu nogle Gange rundt. II—IV pressedes i Skruepresse, de øvrige bragtes strax paa Filtre, og med hvert Udtræk gjordes nu 2 Parallelforsøg over deres Indvirkning paa en mælkesur Proteïnopløsning ved Henstand i 2 Timer ved 47° , idet der før og efter denne Tid fældedes med Garvesyre. Af hvert Udtræk bestemtes tillige Totalkvælstofmængden i 10 Ccm., samt hvor meget Kvælstof der heraf unddrog sig Garvesyrefældningen. Som de anførte Tal vise, bleve Udtrækkene af ret forskellig Styrke i Henseende til Kvælstofindhold, saa for at drage en Sammenligning mellem deres proteolytiske Fermentevne var det nødvendigt at beregne denne efter samme Tørstof- eller samme Kvælstofindhold. Her forekom det mig naturligst at lægge det sidste til Grund for

¹ Rivning med Sand vilde have været bedre, men herover blev jeg først bag efter klar.

Sammenligningen, hvorfor jeg i nedenstaaende Tabel har omregnet til et Maltudtræk, der i 10 Ccm. indeholdt 15 Mgm. Totalkvælstof, som den Mængde, der netop fandtes i det færdige Grøn maltudtræk, hvorved Titreringsfejlene rigtignok ere blevne uforholdsmæssig forøgede for de kvælstoffattige Udtræk. Resultaterne meddeles i nedenstaaende Tabel og grafisk paa Tavle XVII.

Forss 1239—1340	Vand-indhold	I 10 Ccm. Udtræk		110Ccm. Udtr. + 10 Ccm. Prot.	Omdannet N	
		Total N	N i Filtratet	N i Filtratet efter 2 Timer ved 47°	Direkte fundet	Beregn. for et Udtr. m. 15 Mgm. N i 10 Ccm.
	%	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.
O. Lufttørre Korn . . .	16,37	9,68	2,88	2,92	0,04	0,06
I. 1 Døgns Udblødning	39,39	3,80	1,92	2,08	0,16	0,63
II. 2 — —	43,17	3,88	1,82	2,08	0,26	1,00
III. 3 — —	44,91	3,78	1,96	1,90	(÷ 0,06)	(÷ 0,24)
IV. 1 Døgns Spiring ..	45,58	4,45	2,26	2,52	0,26	0,87
V. 2 — — . . .	45,96	6,34	3,12	3,36	0,24	0,57
VI. 3 — — . . .	45,92	6,50	2,96	3,20	0,24	0,55
VII. 4 — — . . .	47,96	10,54	5,40	7,58	2,18	3,10
VIII. 5 — — . . .	47,79	14,18	7,46	12,56	5,10	5,40
IX. 6 — — . . .	48,10	15,17	7,68	14,64	6,96	6,87
X. 7 — — . . .	48,42	14,87	7,74	13,78	6,04	6,09
XI. 8 — — . . .	49,35	15,00	7,22	13,98	6,76	6,75
XII. 9 — — . . .	50,40	14,58	7,08	14,48	7,40	7,59
XIII. 10 — — . . .	47,51	14,48	6,70	13,00	6,30	6,51
XIV. 11 — — . . .	50,30	14,68	7,48	14,40	6,92	7,05
XV. 12 — — . . .	59,82	14,02 14,64	7,26	13,48	6,22	6,69
XVI. 13 — — . . .	56,64	13,56	7,10	13,52	6,42	7,08

I den her benyttede Bygprøve har der altsaa ikke vist sig nogen kjendelig proteolytisk (tryptisk) Fermentevne før paa den 4de Spiringsdag med 3 Dages forudgaaende Udblødning, men den optræder nu ogsaa saa pludselig, at den allerede paa den 6te Spiringsdag omtrent har naaet sit Maximum og derefter holder sig nogenlunde konstant indtil den 13de Spiringsdag eller saa længe, som den her i det hele taget blev forfulgt. Ved den anvendte Maltningsmetode er det i Almindelighed ogsaa netop paa den 4de Spiringsdag og deromkring, at der kommer rigtig Fart i Spi-

ringsprocessen: Rødderne skyde hurtigt frem, Aandedrættet bliver meget livligt, hvorved Maltdyngen bliver varm, og ogsaa Sukkerdannelsen tager rigtig Fart.

Af de Tal, jeg har anført i Tabellen, frembyde anden og tredje Række ogsaa nogen Interesse. Naar der af det lufttørre Byg er udtrukket saa meget mere Totalkvælstof end af de udblødte Prøver og af Prøverne fra de første Spiringsdage, maa dette vist udelukkende skrives paa den større Findelings Regning. Af det lettest opløselige Kvælstof, det, der ikke fældes af Garvesyre, udtrækkes der dog forholdsvis meget mindre af det lufttørre Byg eller kun den samme absolutte Mængde som af Prøven fra den tredje Spiringsdag — af den simple Grund naturligvis, at der endnu findes meget lidt af disse Stoffer, saa længe de proteolytiske Enzymer ikke have virket i selve Kornet. For øvrigt er Forholdet mellem Totalkvælstof og Kvælstof, som ikke fældes af Garvesyre, i alle Prøverne med Undtagelse af den første paa-faldende nær 2:1, saaledes som jeg ogsaa næsten altid har fundet det i de Maltudtræk, jeg ellers har arbejdet med, og dette Forhold forskydes altsaa ikke, selv om Spiringen fortsættes 5 Dage ud over det Stadium, da Grønmalten er »færdig«, — antagelig fordi der ikke kan omdannes synderligt mere af det tilstedeværende Kvælstof ved Hjælp af proteolytiske Enzymer, hvad mine jævnlige Autodigestionsforsøg med Maltudtræk ogsaa have vist.

Hvorledes Vandindholdet stiger og Tørstoffet aftager — for en stor Del paa Grund af Aandedrættet — under Udblødning og Spiring, er jo en velbekendt Sag, og mine Tal herfor stemme vistnok godt med, hvad andre have fundet.

Hvis der er en stor Forskel mellem forskellige Bygsorter — som Windisch & Schellhorn angive — og hvad jeg slet ikke anser for usandsynligt, vilde man kunne finde helt andre Kurver end den af mig her fremførte. Denne gør da heller ikke Fordring paa at være andet end en Type, som endda kun angiver den tryptiske Fermentevnes Udvikling. Maaske optræder det peptiske Enzym paa et langt tidligere Stadium end det tryptiske. De Forsøg, som skulle meddeles i det følgende Afsnit, vise nemlig en kjendelig peptisk Virksomhed allerede i det uspirede Byg. —

Det vilde være meget interessant at forfølge Bygkornets anatomiske Forandringer med særligt Henblik paa de rigest æggehvideførende Væv, Aleuroncellerne, under Spiringsprocessen og om muligt komme under Vejr med, hvor de proteolytiske Enzymer opstaa, om i Kimen eller i Aleuroncellerne eller andetsteds. Dette har jeg ogsaa forsøgt, men jeg fik ikke mine Undersøgelser ført igjen-

nem efter den lagte Plan. Jeg naaede kun i Hovedsagen at kunne bekræfte, hvad H. T. Brown og G. Harris Morris meddele desangaaende i deres fortræffelige Afhandling: »Researches of the germination of some of the gramineæ»¹.

Man skulde vente, at der samtidig med den livlige Proteolyses Indtræden maatte foregaa tilsvarende Forandringer i Aleuroncellelagene. Men dette er tilsyneladende ikke Tilfældet. Efter Brown & Morris² kunne de første Tegn paa Forandringer først iagttages, naar Plumula er voxet 4—5 Mm. over Spidsen af Kornet, idet Aleuronkornene da miste deres skarpe sfæriske Kontur og blive ujævne i Kanterne, og Cellevæggene, som vare meget gjennemsigtige, begynde at vise Tegn paa Lagdeling; og selv naar den unge Kimplante har naaet en Længde af omtrent 100 Mm., og Endospermcellerne ere saa godt som udtømte for Stivelse, kunne flere Aleuronceller endnu være intakte og danne sammenhængende Rækker. Som et Bevis paa deres Modstandskraft mod proteolytiske Enzymer anføre de — efter Aimé Giard —, at Aleuronceller af Hvede kunne passere uforandrede gennem Pattedyrs Fordøjelseskanal.

I nogle Snit, som jeg selv undersøgte, fandt jeg paa den 7de Spiringsdag de to yderste Aleuroncellelag fuldstændig uskadte og stærkt fyldte med Indhold, medens dog det inderste Lag var stærkt medtaget og paa sine Steder næsten helt forsvundet.

Nogle planlagte Forsøg med Dyrkning af isolerede Bygkim, hvortil jeg anvendte nøgent Byg, der velvilligst blev stillet til min Disposition af Hr. Prof. Westermann, bleve heller ikke fuldførte, da andre Forsøg lagde for stærkt Beslag paa min Tid, men paa de her berørte Felter ligger der overmaade interessante anatomisk-fysiologiske Spørgsmaal, som det vist ikke vil være uoverkommeligt at løse, og som jeg haaber igjen at skulle komme tilbage til.

2. Zymogener.

Selv om der ikke findes aktive proteolytiske Enzymer i det modne, uspirede Bygkorn, var det jo muligt, at deres Forstadier, Proenzymer eller Zymogener, vare tilstede, og at disse ved et eller andet saakaldet zymoplastisk Agens (Syre, Temperatur o. l.) let kunde overføres i den virksomme Form. Man kjender jo flere

¹ Brown & Morris: Journal of the chem. society. Vol. LVII 458—528 (1890).

² l. c. p. 473.

saadanne Proenzymer, f. Ex. Propepsin og Prochymosin, der findes i Maven af Pattedyr, og som man er i Stand til at skille fra de aktive Enzymer. Propepsin taaler saaledes i Modsætning til Pepsin svage Alkaliens Indvirkning, hvorved det lader sig udtrække med en Sodaopløsning og senere aktivere ved Tilsætning af Syre (Langley & Edkins¹, Glaessner²). I Nepenthes-Kanderne mener Vines³ ogsaa at have fundet et Proenzym, der først ved Syre virker proteolytisk, og noget lignende mener J. Reynolds Green⁴ at have fundet i hvilende Frø af *Lupinus hirsutus*, idet et Glycerin-Udtræk heraf først efter en kort Opvarmning med en fortyndet Syre blev proteolytisk virksomt.

Foranlediget ved disse Angivelser anstillede jeg da følgende Forsøg:

Et Parti Byg maledes (den 6te November 1901) saa fint, at der kunde udtages ensartede Prøver af det. Disse digereredes paa forskjellig Maade:

- 1) 100 Gm. Bygmel + 300 Ccm. Vand (»Bu-Aq 35°«)
- 2) — — + 300 — 0,2% Mælkesyre (»Bu-Lact 35°«)
- 3) — — + 300 — $\frac{1}{100}$ n Na_2CO_3 (Bu- Na_2CO_3 35°«)
- 4) — — + 200 — Glycerin + 100 Ccm. Vand (»Bu-Glyc 35°«)

Til hver af Prøverne sattes en rigelig Mængde Toluol, og der røres hyppigt rundt i dem, efter at de Kl. 3 Eftm. vare henstillede i Mæskebægere paa Vandbad, der denne Dag viste 29°, indtil næste Dag Kl. 10 $\frac{1}{2}$, da Temperaturen var stegen til 35°. Alle Bægrene vare dækkede med en tætsluttende Glasplade for at hindre Fordampning. — Paa denne Maade kunde man vente at faa tilstedeværende Zymogener enten udtrukne eller tillige aktivere (ved Syrens og Temperaturens Indvirkning). Til Kontrol henstilledes to Prøver i Isskabet ved 5°.

¹ Langley and Edkins: Pepsinogen and pepsin. Journ. of Physiology, III, 246 (1886).

² Karl Glaessner: Ueber die Vorstufen der Magenfermente, Beitr. z. chem. Physiologie und Pathologie, I, 1 (1901).

³ Sidney-Vines: The proteolytic enzyme of Nepenthes. Annals of Botany XI, 563 (1897).

⁴ Green: On the changes in the proteids in the seed, which accompany germination. Philos. Transactions t. 178, B, 39 (1887). — On vegetable ferments. Ann. of botany. Vol. VII, 83 (1893). — The soluble ferments and fermentation. London 1899 p. 207.

- 5) 100 Gm. Bygmel + 300 Ccm. Vand (»Bu-Aq 5^o«)
 6) — — + 300 — 0,2 % Mælkesyre (»Bu-Lact 5^o«)

Her vilde der antagelig ikke ske nogen Aktivering af de muligt forekommende Proenzymer, men fandtes der aktive Enzymer i denne Bygprøve, vilde de ogsaa udtrækkes i Kulden.

Da der den 7de November Kl. 7¹/₂ Form. rørtes rundt i de forskellige Prøver, fulgte der en meget livlig Luftudvikling — hidrørende fra en indtraadt Gjæring — i 1). I 3) var Melet løftet i Vejret, og Omrøringen medførte foruden en hæftig Luftudvikling ogsaa en meget ilde Lugt, som hidrørende fra en Smørsyregjæring i Forbindelse med Forraadnelse. Toluolet havde alt-saa (ved den høje Temperatur) ikke været i Stand til at hindre Mikroorganismers Udvikling i disse Prøver. I 2) og 4) var der intet synligt Tegn paa Gjæring, og 5) og 6) havde ogsaa holdt sig fuldstændig friske.

Alle Prøverne filtreredes Kl. 11. Det først gennemløbne uklare Filtrat hældtes tilbage paa Filtret, men med Undtagelse af 5) og 6) filtrerede dog ingen af Prøverne fuldstændig klart. Da ogsaa Filtratet fra 3) havde den ilde Lugt, toges det ikke i Brug ved de paafølgende Forsøg.

Af de øvrige Filtrater sattes der 10 Ccm. til en 2 Procents Hvedeproteinopløsning i Mælkesyre paa 0,2 % for de mælkesure Udtræks Vedkommende, paa 0,4 % for de øvrige, saa at Mælkesyrekoncentrationen i alle Forsøgsvæsker blev 0,2 %. Der benyttes baade Stannochlorid og Garvesyre som Fældningsmidler og gjordes Kvælstofbestemmelser før og efter 2 Timers Henstand ved 50°. Var der et færdigt dannet Enzym tilstede, maatte dette da ogsaa give sig til Kjende i disse Forsøg. Proteinopløsningen indeholdt i 10 Ccm. 32,76 Mgm. Kvælstof. De øvrige Bestemmelser ere meddelte i hosstaaende Tabel.

Da disse første Forsøg gave saa ringe Udslag for proteolytisk Virksomhed, gjentoges de den 14de November, efter at Udtrækkene havde henstaaet ved Stuetemperatur (c. 18°) med rigelig Tilsætning af Toluol, idet der dog kun fældedes med Stannochlorid. Alle Prøverne holdt sig i de 7 Dage fuldstændig klare. Muligvis var der da i de sure Udtræk sket en Omdannelse fra Proenzym til Enzym. I Tabellen ere disse sidste Bestemmelser forenede med de første ved Klammer. (Se Tabellen).

Disse Forsøg tyde paa, at der i denne Bygprøve har været en ringe Mængde Peptase, men ingen Tryptase i aktiv Form tilstede, idet alle Prøverne, selv de ved 5°, have givet kjendelige

Forss. { 2201—2230 2241—2251	Total N	N i Filtratet fra Stannochlorid		N i Filtr. fra Garvesyre		Omdannet N, som ikke fældes af	
		Strax	Efter 2 T. ved 50°	Strax	Efter 2 Timer ved 50°	Stanno- chlorid	Garvesyre
		Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.
Bu-Aq 35°	13,02	—	—	—	—	—	—
Bu-Aq-Prot.	—	$\frac{7}{11}$ { 9,88 $\frac{14}{11}$ { 10,92	$\frac{7}{11}$ { 10,46 $\frac{14}{11}$ { 11,56	4,84	4,94	$\frac{7}{11}$ { 0,58 $\frac{14}{11}$ { 0,64	0,10 —
Bu-Lact 35°	16,18	—	—	—	—	—	—
Bu-Lact-Prot. 35° . . .	—	$\frac{7}{11}$ { 12,90 $\frac{14}{11}$ { 14,76	$\frac{7}{11}$ { 14,24 $\frac{14}{11}$ { 16,02	6,90	7,30	$\frac{7}{11}$ { 1,34 $\frac{14}{11}$ { 1,26	0,40 —
Bu-Glyc 35°	11,40	—	—	—	—	—	—
Bu-Glyc-Prot 35° . . .	—	$\frac{7}{11}$ { 6,80 $\frac{14}{11}$ { 7,60	$\frac{7}{11}$ { 7,80 $\frac{14}{11}$ { 8,40	3,20	(2,80)	$\frac{7}{11}$ { 1,00 $\frac{14}{11}$ { 0,80	(÷ 0,40) —
Bu-Aq 5°	6,08	—	—	—	—	—	—
Bu-Aq-Prot. 5°	—	$\frac{7}{11}$ { 4,86 $\frac{14}{11}$ { 6,02	$\frac{7}{11}$ { 5,52 $\frac{14}{11}$ { 6,28	1,96	1,96	$\frac{7}{11}$ { 0,66 $\frac{14}{11}$ { 0,26	0,00 —
Bu-Lact 5°	5,36	—	—	—	—	—	—
Bu-Lact-Prot 5°	—	$\frac{7}{11}$ { 4,86 $\frac{14}{11}$ { 5,92	$\frac{7}{11}$ { 5,60 $\frac{14}{11}$ { 6,52	2,00	2,12	$\frac{7}{11}$ { 0,74 $\frac{14}{11}$ { 0,60	0,12 —

peptoniserende Virkninger. Og naar det ved 35° tilberedte mælkesure Udtræk i saa Henseende har givet tydeligt stærkere Virkning end de andre, ligesom man her ogsaa finder en svag tryptisk Virkning, kunde dette jo nok tyde paa Tilstedeværelsen af Zymogener baade for det tryptiske og det peptiske Enzym. Dog synes Udslagene mig at være saa smaa, at jeg ikke vil drage videregaaende Slutninger heraf. Men at der i det hele taget i Udtrækkene, og navnlig i de mælkesure, har været proteolytiske Enzymer tilstede, derom kan der ikke tvivles, naar man sammenholder det her anførte med de Forandringer, der ere foregaaede i selve Udtrækkene ved Henstand fra den 7de til den 14de Novbr. (se 2den Kolonne i Tabellen), og som alle tyde paa en peptisk Nedbrydning. Derimod er der i denne Tid ikke sket nogen Forøgelse, i visse Tilfælde snarere en Svækkelse af Fermentevnen, eller med andre Ord, der er ikke foregaaet nogen yderligere Omdannelse af Proenzymer til aktive Enzymer.

VI.

OVERSIGT OVER HOVEDRESULTATERNE.

Som de vigtigste Resultater af denne Undersøgelse ville i Korthed følgende kunne anføres:

I. Et vandigt Udtræk af spirende Byg (Grøn malt) har udpræget proteolytiske Egenskaber, der kunne give sig til Kjende foruden ved en Autodigestion ved Omdannelsen af fremmede, tilsatte Æggehvdestoffer. Omdannelsen af et saadant, f. Ex. Hvedeprotein, kan saavel kvantitativt som kvalitativt føres meget vidt og viser netop den Afhængighed af ydre Faktorer, som er karakteristisk for Enzymvirkninger.

II. I Proteolysen af Hvedeprotein kan der ved Fældninger med Stannochlorid og Garvesyre paavises to forskellige Faser, en hydrolytisk, albumosedannende eller peptisk og en dybere spaltende eller tryptisk Fase, der fører til Dannelsen af ikke-proteinagtige, krystallinske Forbindelser.

III. De to Faser i Proteolysen maa antages at skyldes hver sit Enzym, henholdsvis Peptase og Tryptase, idet de ofte vise forskjellig Afhængighed overfor ydre Faktorer.

1. Temperaturkurverne for de to Virksomheder have ikke alene en forskjellig Form, men ogsaa delvis forskjelligt beliggende Kardinalpunkter (Minimum og Optimum). Se p. 47—48.

2. Afbrydes Proteolysen efter forskjellige Tidsrum, vil man faa forskjellige Billeder af den samlede Proces, idet den peptiske Virksomhed er hurtigt forløbende og snart føres til Ende, medens den langsommere forløbende tryptiske Virksomhed fortsættes, efter at den første er ophørt, indtil alle de peptiske Spaltningsprodukter ere blevene yderligere omdannede.

3. Den Indflydelse, som Variationer i en enkelt Faktor (Temperaturen, Maltudtrækkets Mængde, Proteinopløsningens Koncentration, Forsøgstidens Længde) have, er afhængig af samtidige Variationer i de andre.

4. Proteolysen synes i den tryptiske Fase ikke eller kun i meget ringe Grad at foregaa, naar Substratets Reaktion er neutral. Tilsætningen af en ringe Mængde (organisk eller uorganisk) Syre virker derimod stærkt fremmende, Tilsætning af Alkali hæmmende paa Processen.

5. Syrernes og Alkaliernes Indflydelse kan forklares i Overensstemmelse med den af Fernbach & Hubert fremsatte Teori,

hvorefter det i Virkeligheden er de i Maltudtrækket sammen med Enzymerne forekommende primære og sekundære Fosfater, der ere bestemmende for Proteolysens Forløb, idet de første virke fremmende, de sidste hæmmende paa denne.

6. Den tryptiske Fase i Proteolysen hæmmes proportionalt med Mængden af tilsat Alkokol.

7. Den hæmmes tillige i stigende Grad af følgende Antiseptika: Thymol, Chloroform, Formol (Benzoësyre og Salicylsyre). Den peptiske Virksomhed synes mindre følsom, i hvert Fald overfor Formol. Hverken den peptiske eller den tryptiske Virksomhed svækkes synderligt af Toluol, som derfor, særlig ved lave Temperaturer, er et godt Konserveringsmiddel for Maltudtrækkets proteolytiske Fermentevne.

IV. Antagelsen af mindst to proteolytiske Enzymer støttes desuden til, at man ved Fældning i et Maltudtræk med stærk Alkohol faar Præparater med saa godt som kun peptiske Egenskaber, idet den tryptiske Evne undertrykkes ved Indvirkningen af Alkohol.

V. Af Enzymernes fysiske og kemiske Egenskaber maa nævnes:

1. At de ere omtrent lige opløselige i Vand, svag Mælkesyre og Glycerin.

2. At de kun i yderst ringe Grad kunne diffundere gennem en dyrisk Hinde.

3. At de i tør Tilstand taale langsom Opvarmning til i det mindste 95°, medens de i opløst Tilstand destrueres ved c. 70°.

4. Frysning af et Maltudtræk destruerer ikke dets tryptiske Evne, antagelig da heller ikke dets peptiske.

5. Lyset har kun en yderst ringe om overhovedet nogen svækkende Indflydelse paa saavel Peptase som Tryptase.

6. Derimod ere de begge, og navnlig Tryptasen, meget følsomme overfor stærke Syrer og Alkalier samt flere almindelig anvendte Antiseptika.

7. Ved Henstand i Kulden under Tilsætning af Toluol kan baade det peptiske og det tryptiske Enzym, men navnlig det første, konserveres i længere Tid.

VI. Maltudtrækkets proteolytiske Enzymer ere i Stand til at omdanne flere meget forskellige Æggehvideoffer saavel af vegetabilsk som af animalsk Oprindelse. Følgende omdannes af Tryptasen i stigende Grad efter den Orden, hvori de anføres: Maltprotein, Rugprotein, Bygprotein, Kasein, Havreprotein, Hvedeprotein og Legumin. Derimod paa-

virkes Hønsæggehvite kun i ringe Grad af saavel Peptase som Tryptase, medens de begge meget kraftigt omdanne Oxefibrin (Tryptofanreaktion). I flere Hønsender staar den proteolytiske Sønderdeling ved Maltudtrækkets proteolytiske Enzymer hverken kvantitativt eller kvalitativt tilbage for den, der iværksættes af dyrisk Pepsin og Trypsin.

VII. Af proteolytiske Spaltningsprodukter af Hvedeprotein danner Peptasen hurtigt en overordentlig stor Mængde Albumoser, der af Tryptasen efterhaanden nedbrydes videre til ikke-proteinagtige, krystallinske Forbindelser. Ægte Peptoner optræde kun i ringe Mængde, sandsynligvis som Gjennemgangsled fra Albumoser til de krystallinske Produkter. Disse Omdannelser vise sig ved en hurtig Tiltagen af diffusible Kvælstofforbindelser og ved Dannelsen af saadanne Stoffer, der unddrage sig Fældning med Garvesyre, Uranacetat og Fosfor-Wolframsyre (Aminer, Amider og Hexonbaser o. l.). Blandt Omdannelsesprodukterne maa ogsaa nævnes betydelige Mængder af Ammoniak.

VIII. I det uspirede Bygkorn har jeg kun kunnet paa-vise en yderst svag peptisk og saa godt som ingen tryptisk Fermentevne. Den sidste kunde heller ikke paavises under 3 Dages Udblødning og under 3 derefter følgende Spiredage. Men paa den 4de Spiringsdag optraadte den pludselig med stor Styrke og havde paa den 6te Spiringsdag naaet sit Maximum, hvorefter den holdt sig omtrent konstant til den 13de Spiringsdag, — saalænge den forfulgtes.

IX. I det hvilende Bygkorn synes der at kunne paavises ganske ringe Mængder Zymogen saavel for Peptasen som for Tryptasen, der kan aktiveres ved Indvirkning af svag Mælkesyre og en passende Temperatur.

(Se ogsaa Tavlerne I—XVII.)

THESES.

I.

Den saakaldte Respirationskoefficient ($\frac{CO_2}{O_2}$) er ikke — som af Bonnier & Mangin paastaaet — en for samme Plante eller Plantedel ved forskellige Temperaturer konstant Størrelse.

II.

Det antages almindeligt, at Planternes normale Respiration (saavel Iltoptagelsen som Kulsyreudviklingen) i Intensitet stiger med Temperaturen — uden Optimum —, indtil Plantens Død indtræder, og at Temperaturens Indflydelse finder sit Udtryk i en parabolisk Formel eller Kurve. Denne Sætning har dog næppe almen Gyldighed.

III.

Iltoptagelsen og Kulsyreudviklingen under Planternes normale Respiration ere to af hinanden delvis uafhængige Processer, der end ikke altid foregaa samtidig.

IV.

En Plantecellevægs Fladevækst kan tænkes undertiden at foregaa uafhængig af Saftspændingen derved, at visse opløste Stoffer udskilles (udkrystallisere) inde i Væggen og ved Overgangen fra opløst til fast Form udøve et saadant Tryk, at Væggens Smaadele spiles ud fra hinanden.

V.

Dannelsen af Alkohol under Gjæringsprocesser og ved det intramolekulære Aandedræt tjener ikke alene til Energiforsyning for den paagældende Organisme, men Alkohol er et for mange Organismer meget vigtigt Næringsstof, der ogsaa ofte dannes, men strax efter forbruges, under det normale Stofskifte.

VI.

De af Mikroorganismer dannede Gjæringsprodukter ere i Reglen ikke at betragte som skadelige eller unyttige Stofskifteprodukter, men tværtimod som den Form, hvori Gjæringsmaterialét bedst tjener som Næringsstof for den paagjældende Mikrob.

VII.

Beijerincks Teori, at der ingen obligate Anaërobionter findes men højst mikro-aërofile Organismer, kan ikke bringes i Overensstemmelse med foreliggende Kjendsgjæringer.

VIII.

De af Ostwalds Elever (Bredig, Reinders, Ikeda m. fl.) undersøgte saakaldte »uorganiske Fermenter« (kolloide Metaller, Soler) kunne aldeles ikke, som Forfatterne have gjort, sammenlignes med Enzymerne, og den hermed dragne Parallel i Afhængigheden af ydre Faktorer er dels meget ufuldkommen, dels ganske tilfældig.

IX.

Spørgsmaalet om Æggevidestoffernes Konstitution kan næppe løses ad rent kemisk Vej. Fysiologisk-analytiske Experimenter maa her gaa Haand i Haand med den syntetiske Forskning.

Tavle 1.

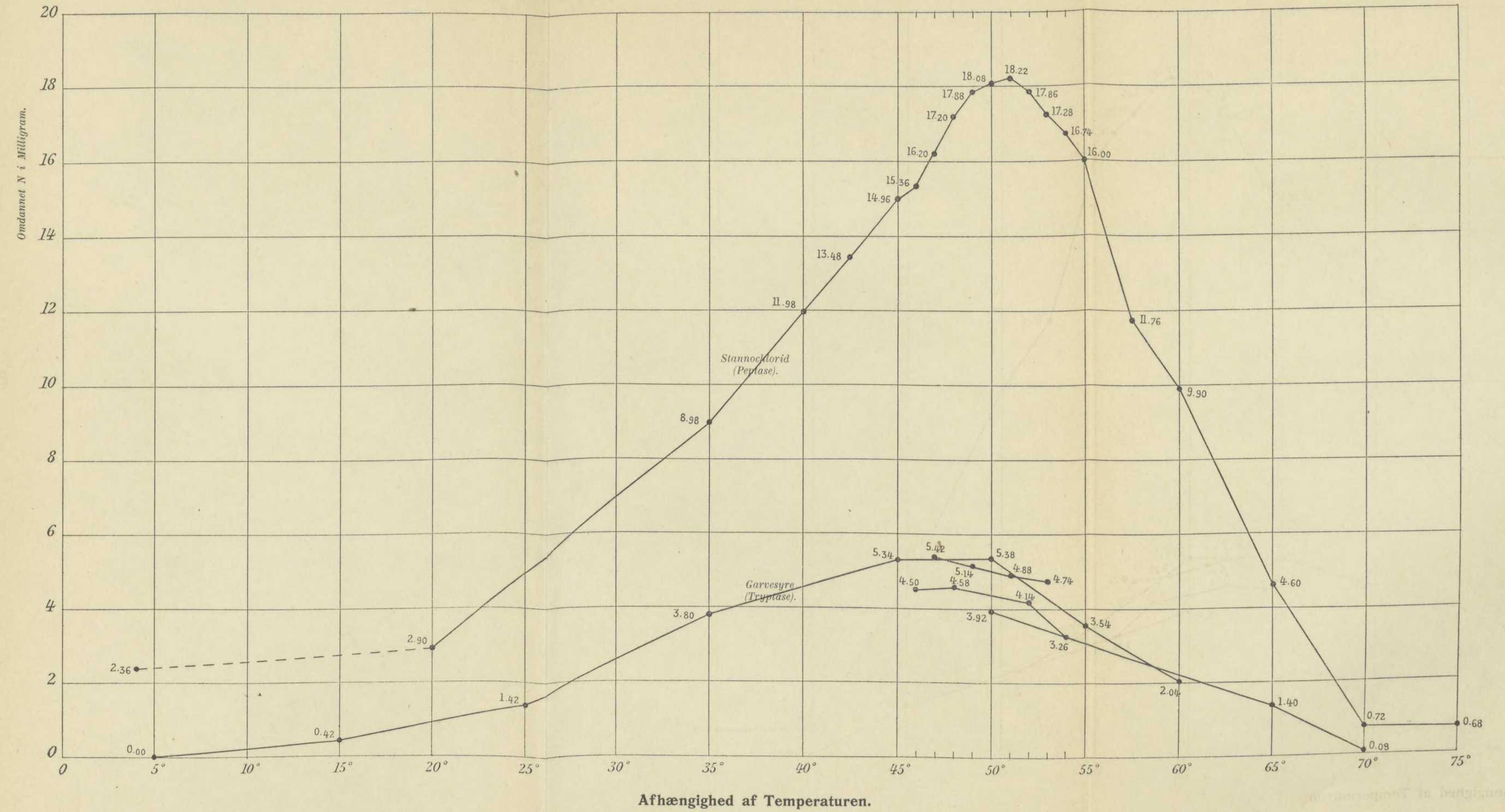


Table II.

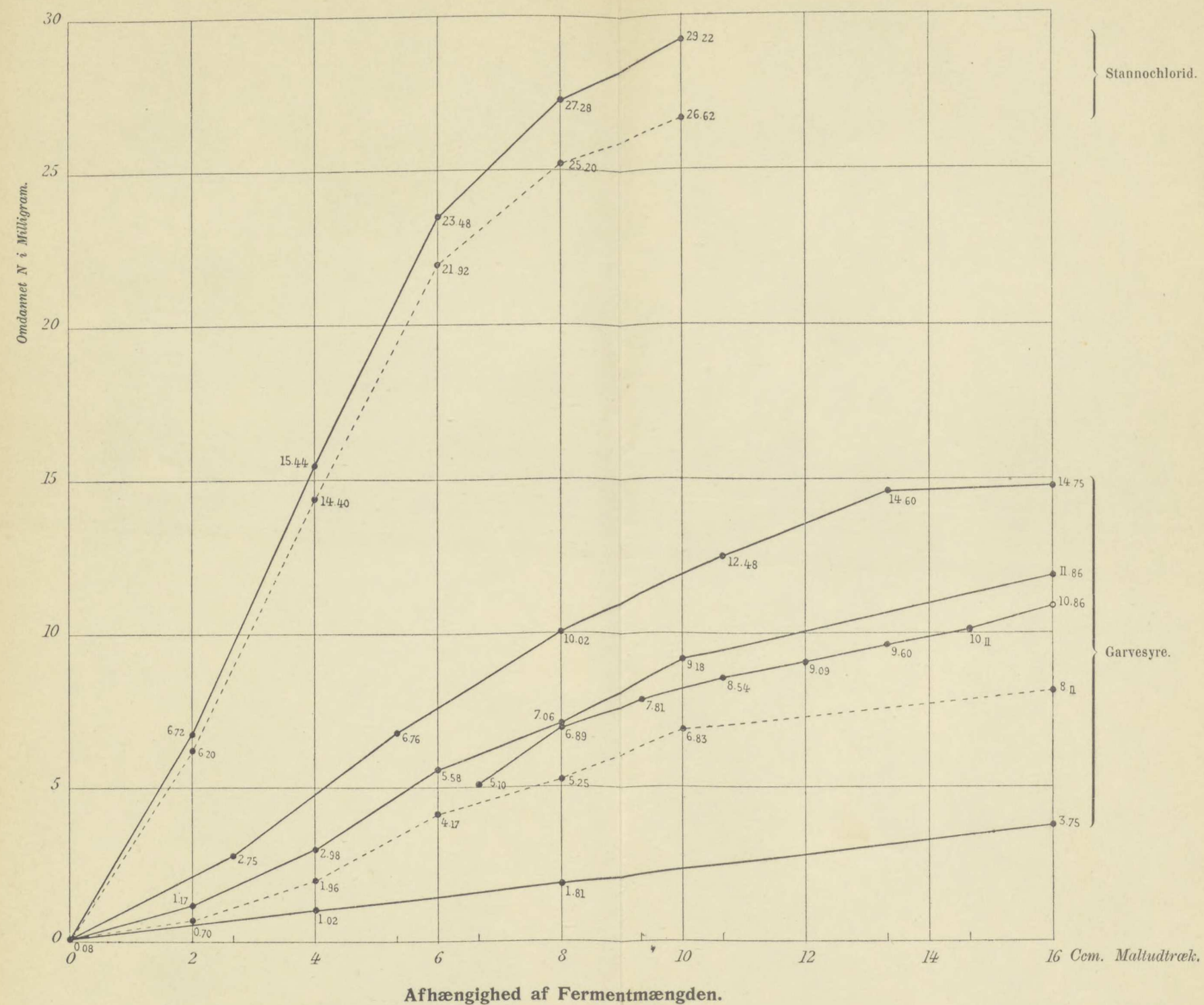
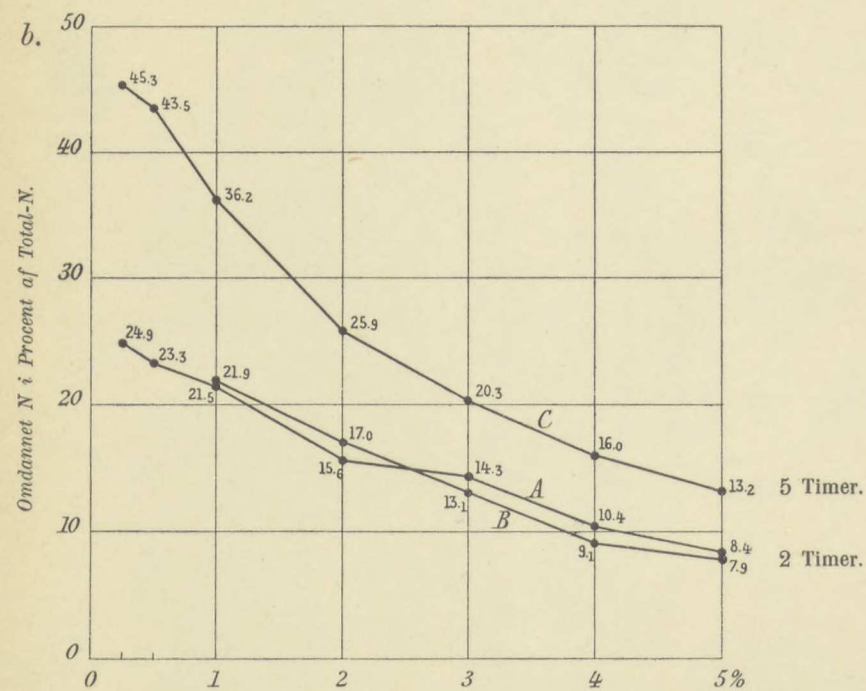
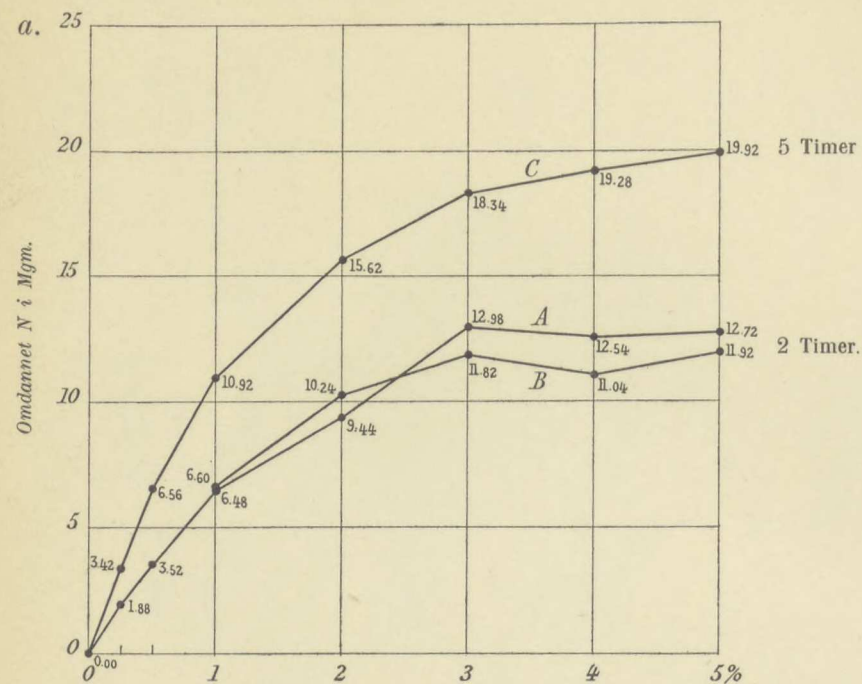
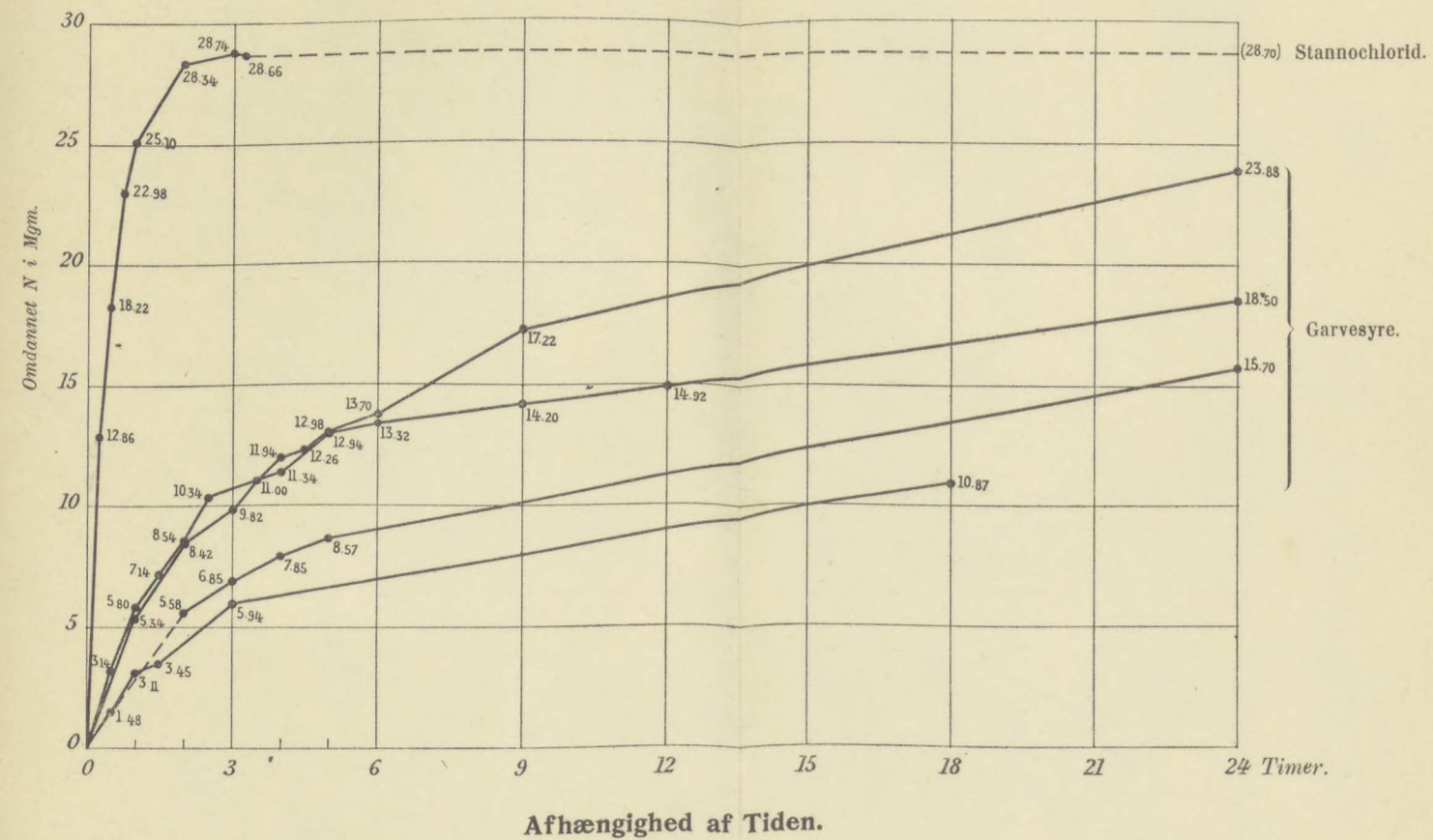


Table III.



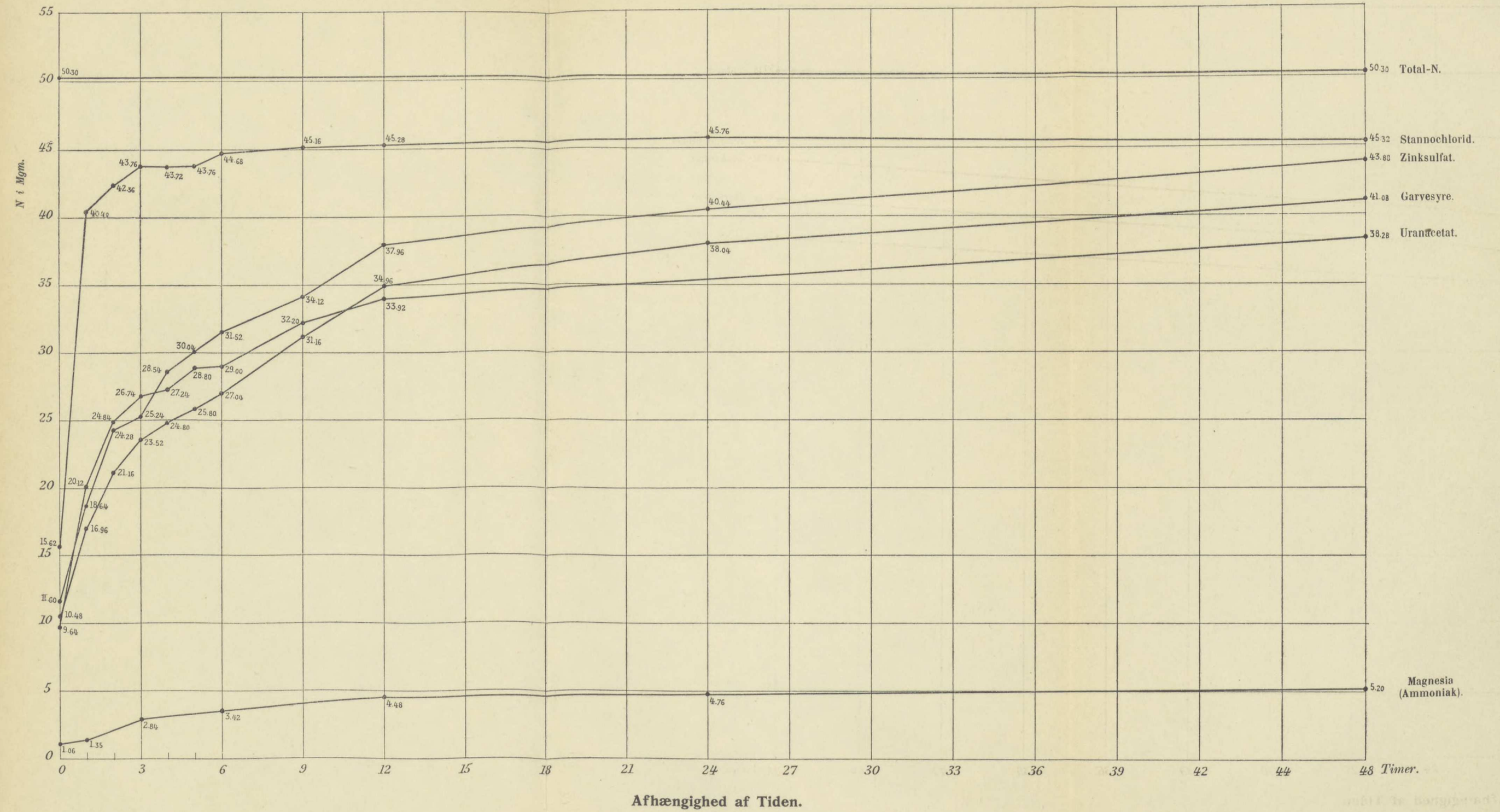
Afhængighed af Proteïnkonsentrationen.

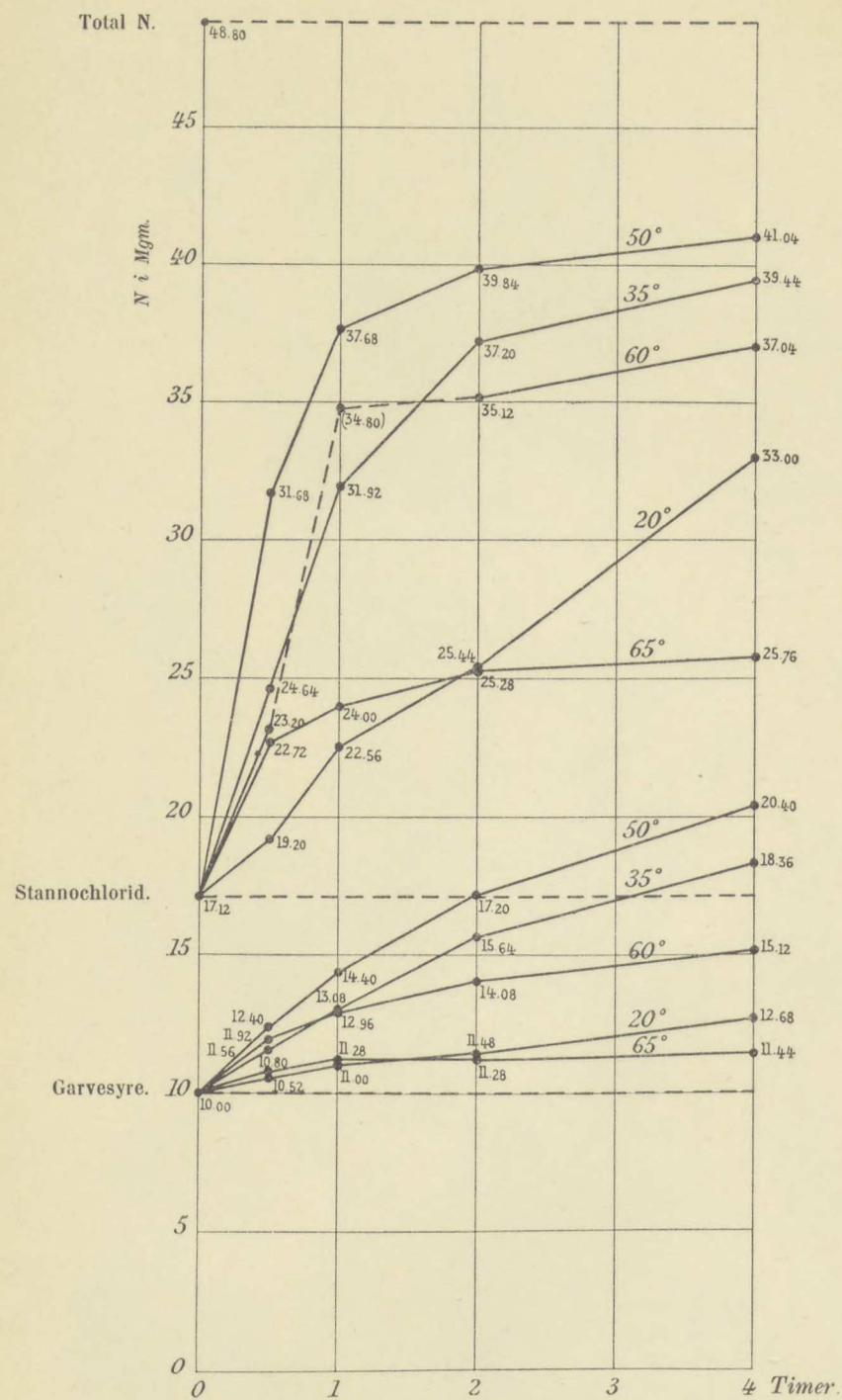
Tavle IV.



Fr. Weis: Proteol. Enzymer.

Table V.





Afhængighed af Tiden ved forskellige Temperaturer.

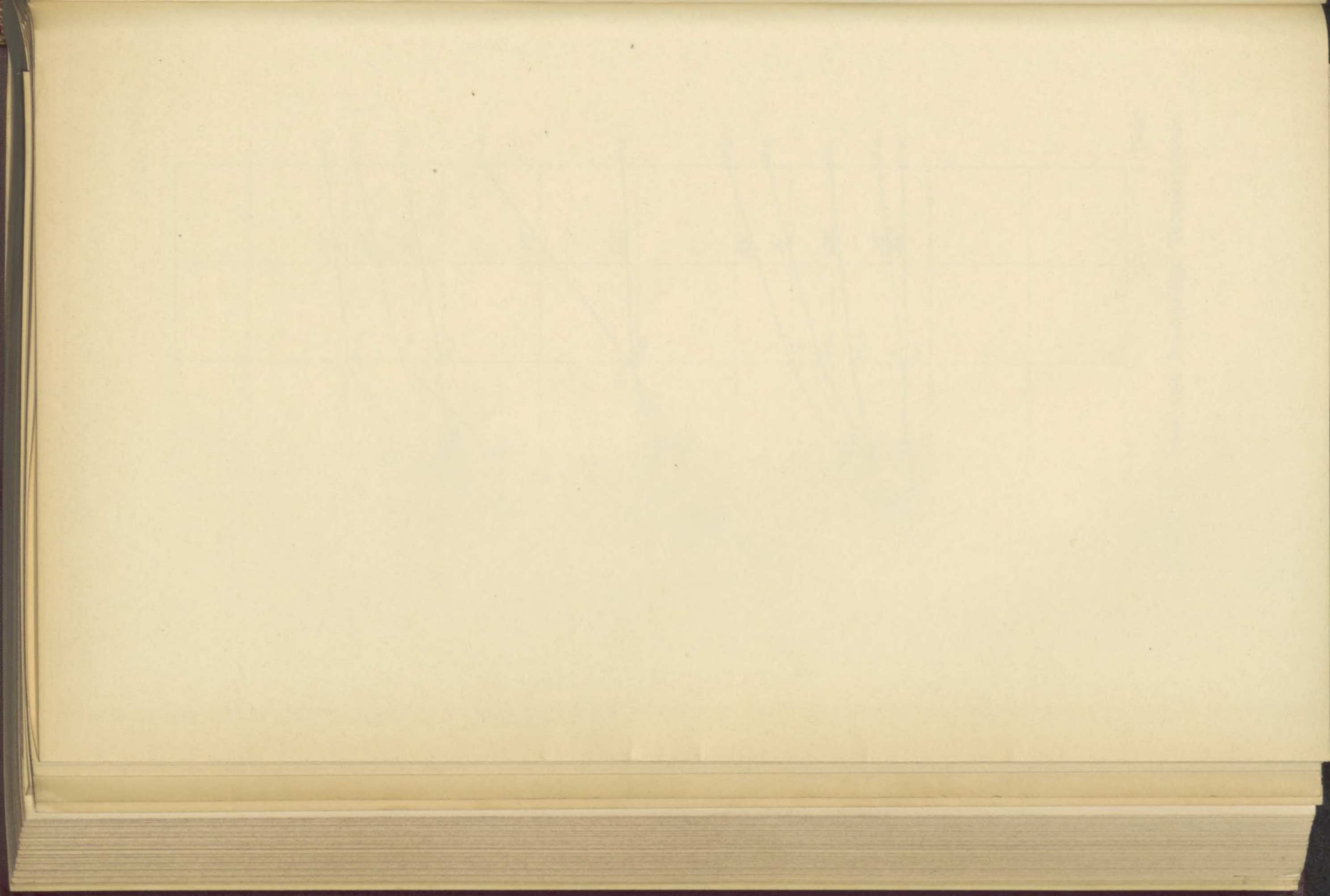
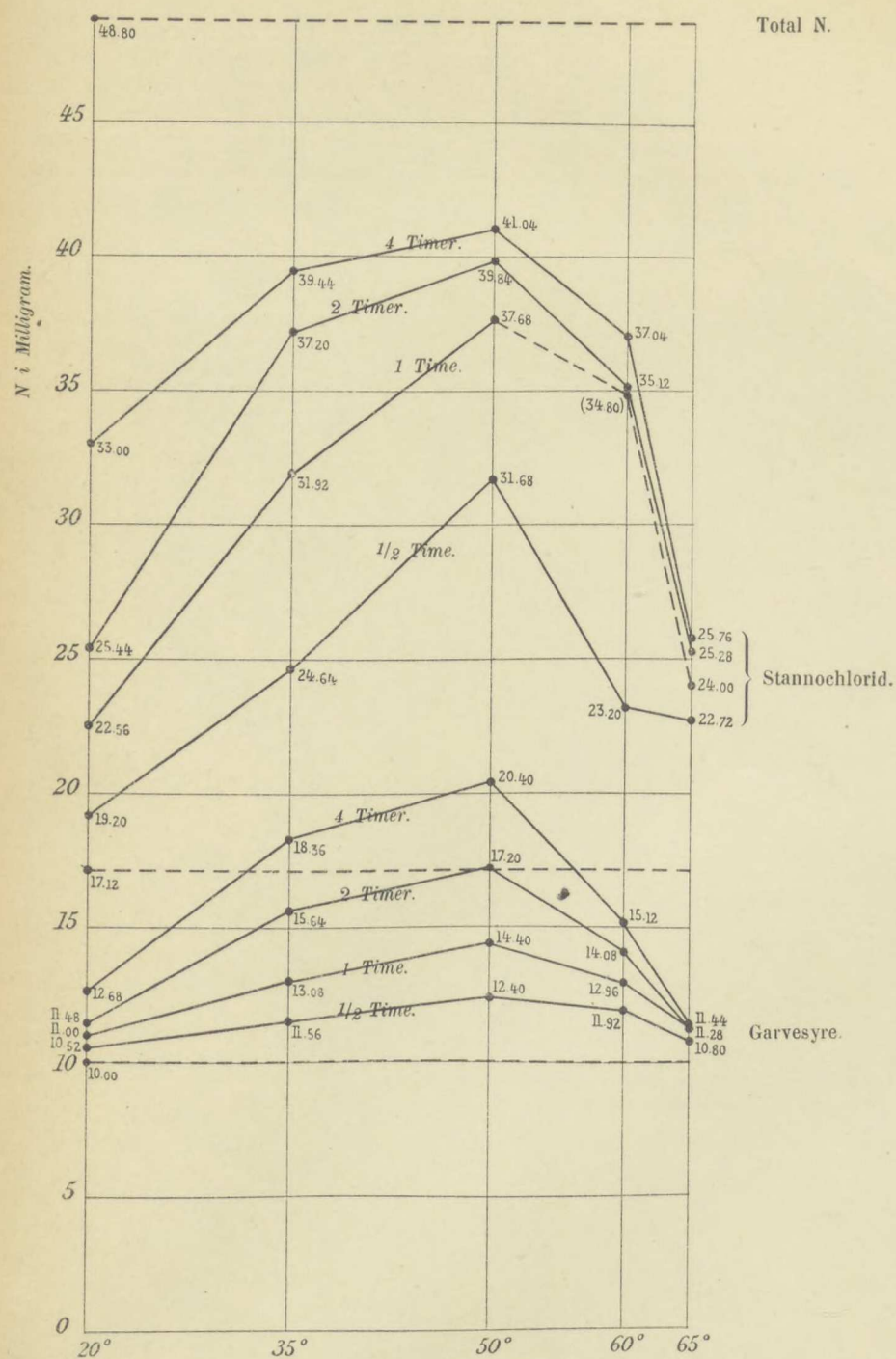
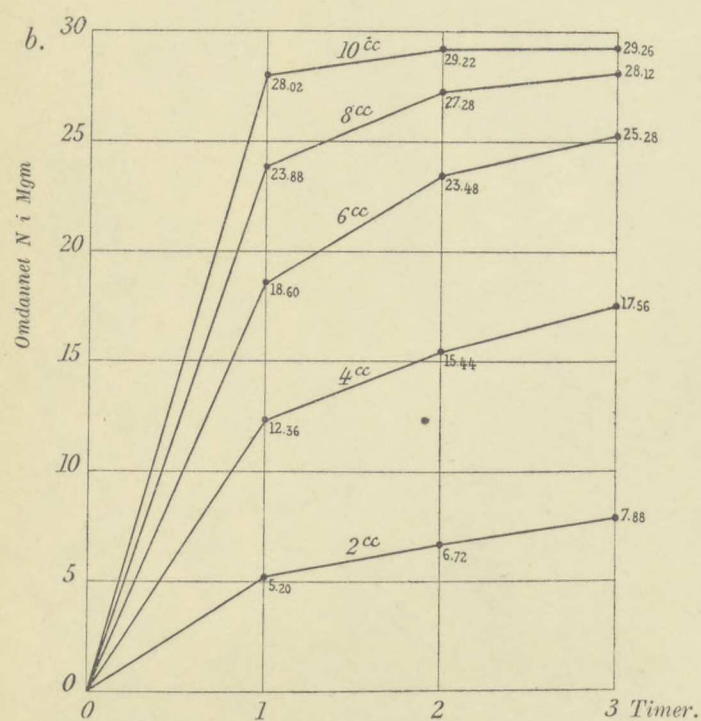
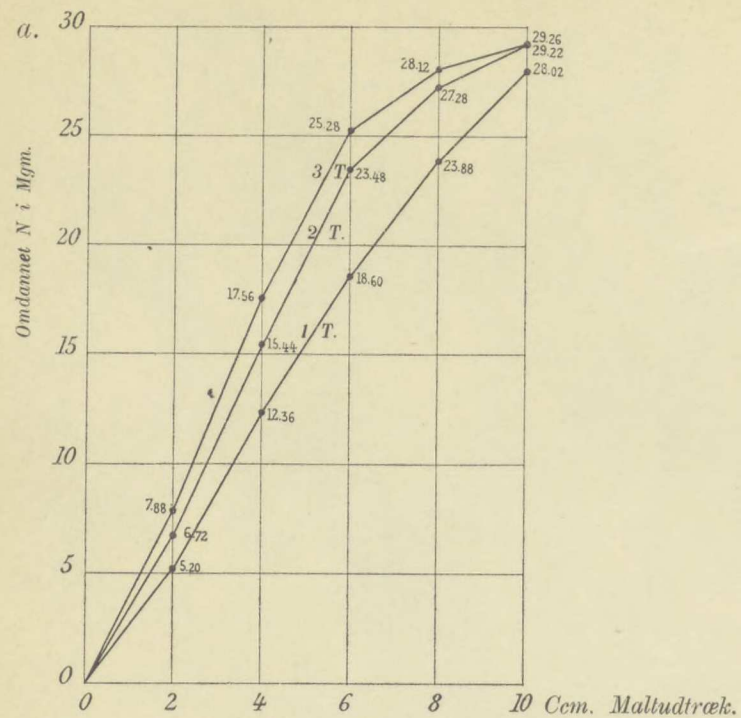


Table VII.

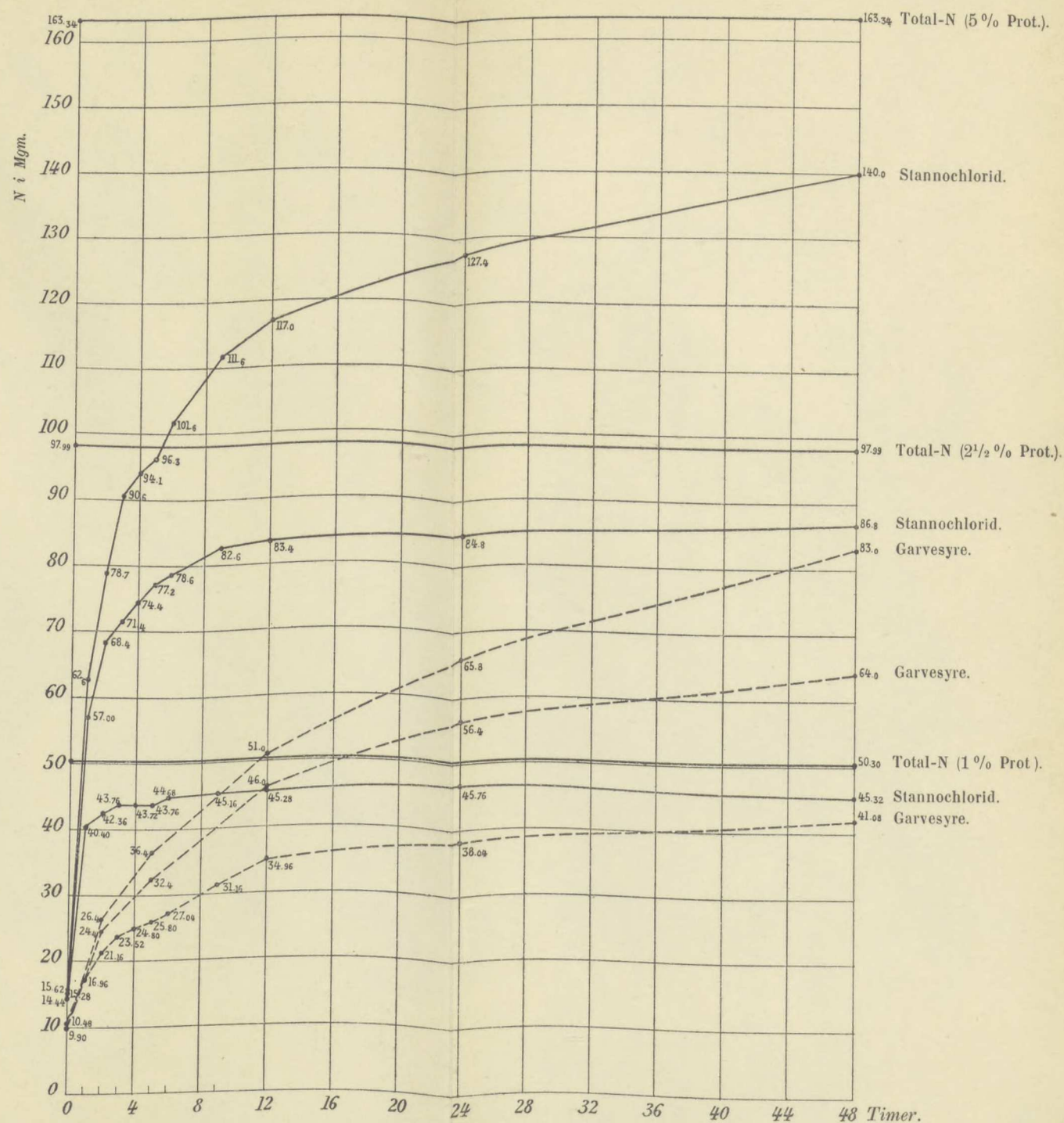


Afhængighed af Tiden ved forskellige Temperaturer.



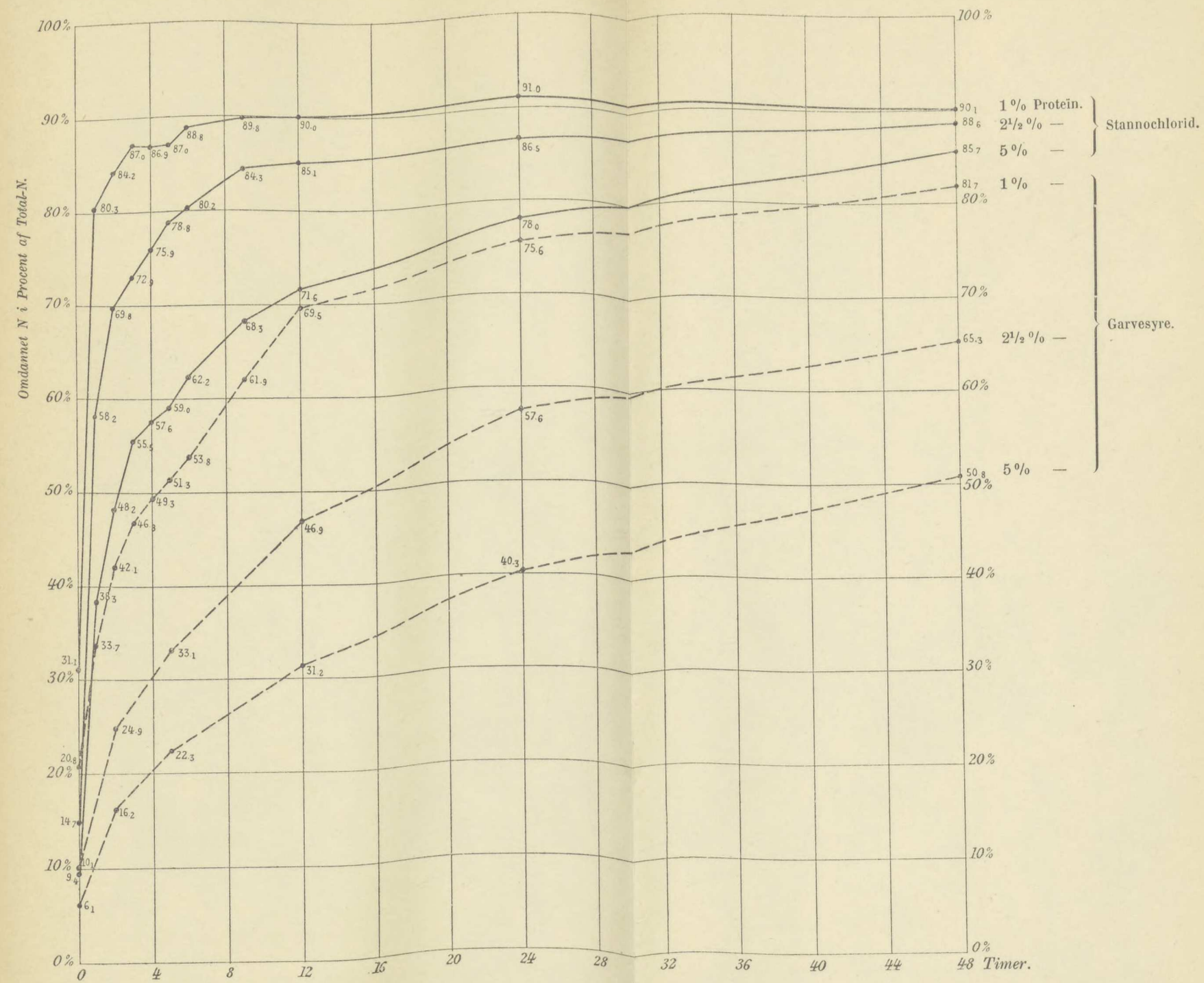
Afhængighed af Tiden ved forskellige Fermentmængder.

Tavle IX.

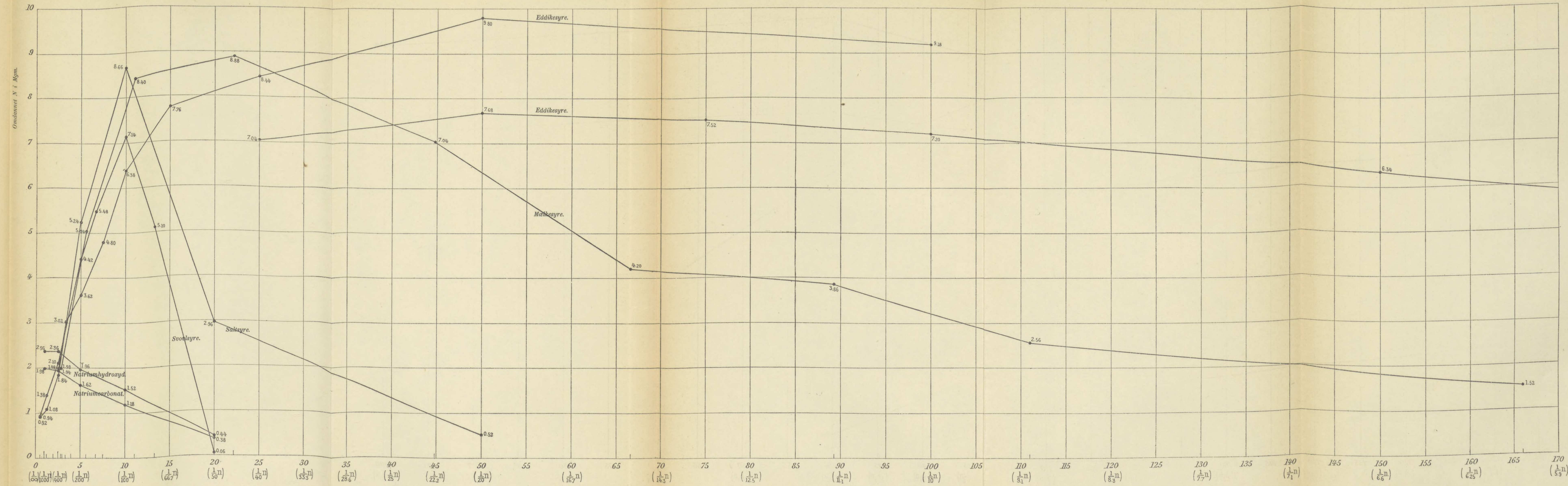


Afhængighed af Tiden ved forskellige Proteïnkonzentrationer.

Table X.



Afhængighed af Tiden ved forskellige Proteïnkonzentrationer.



Syrers og Basers Indflydelse paa Tryptasen.

Fr Weis: Proteol. Enzymer.

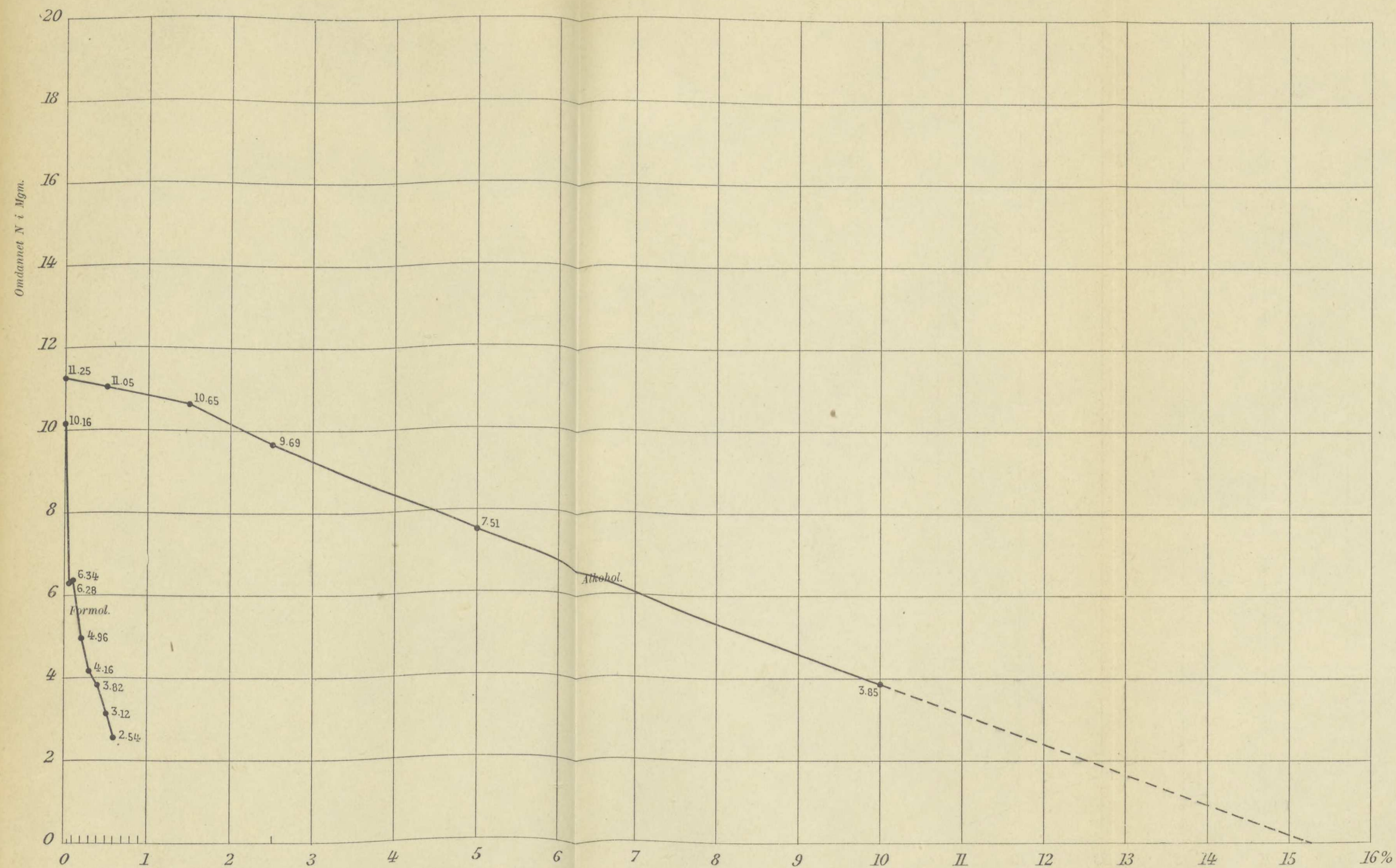


Table 1

Year

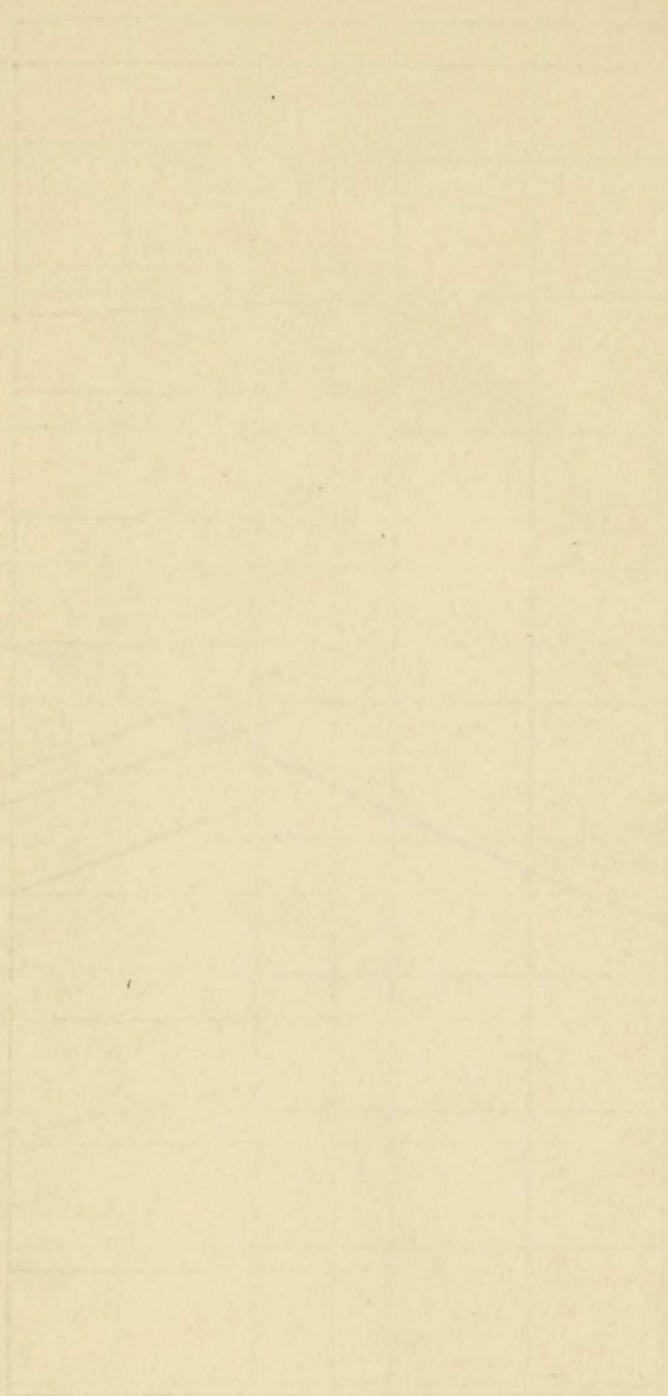
Production

1910

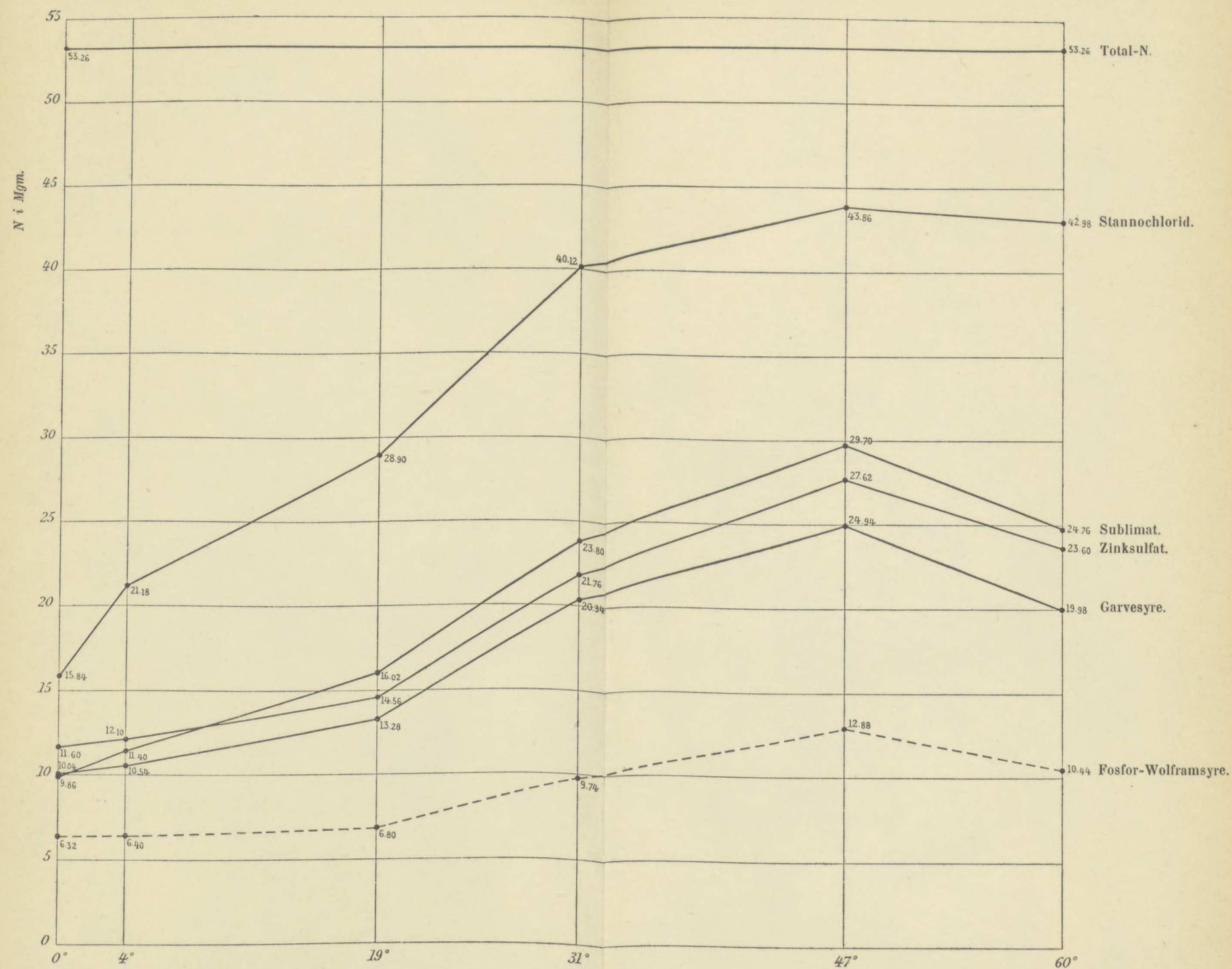
1911

1912

1913

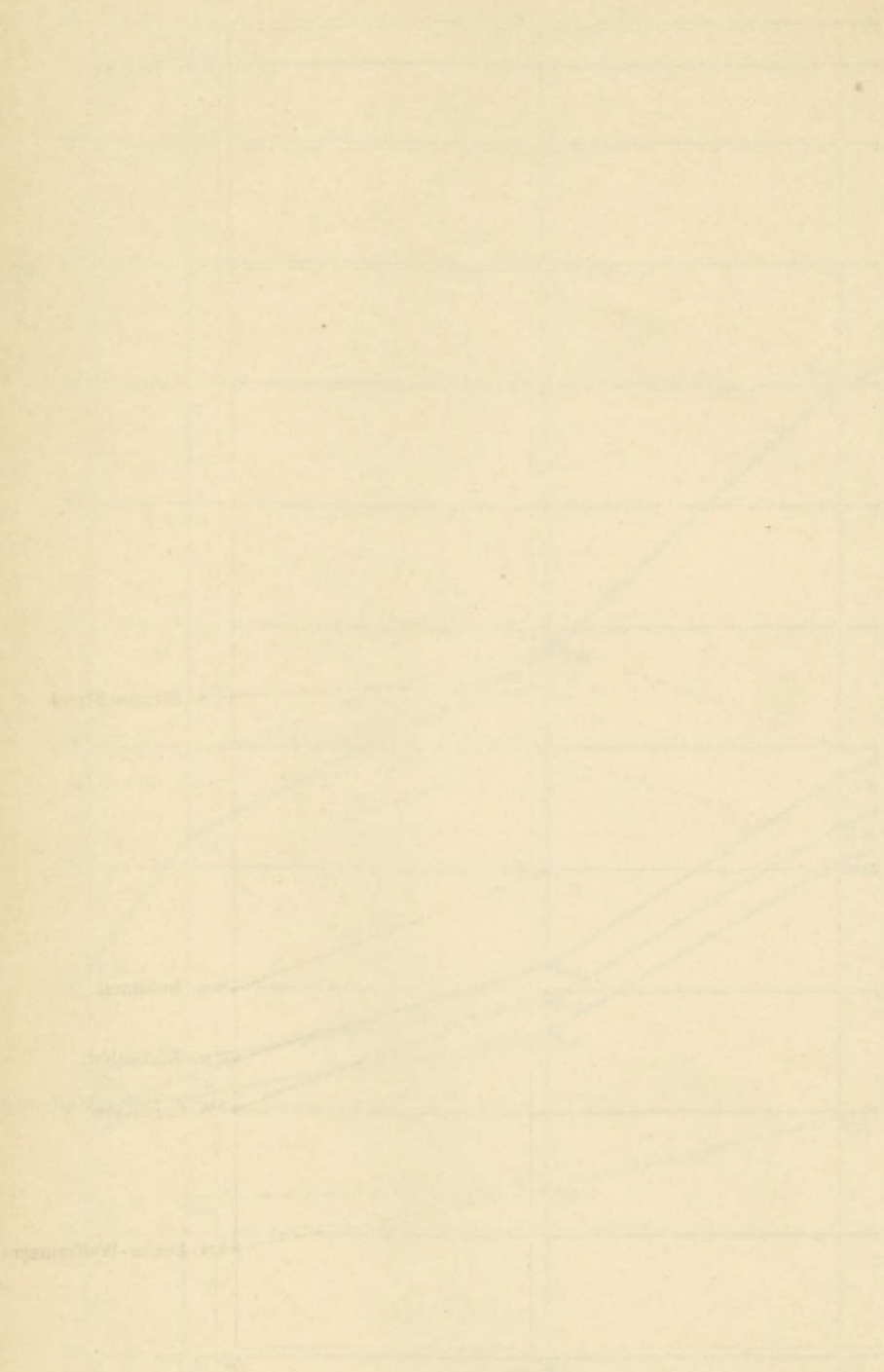


Tavle XIII.

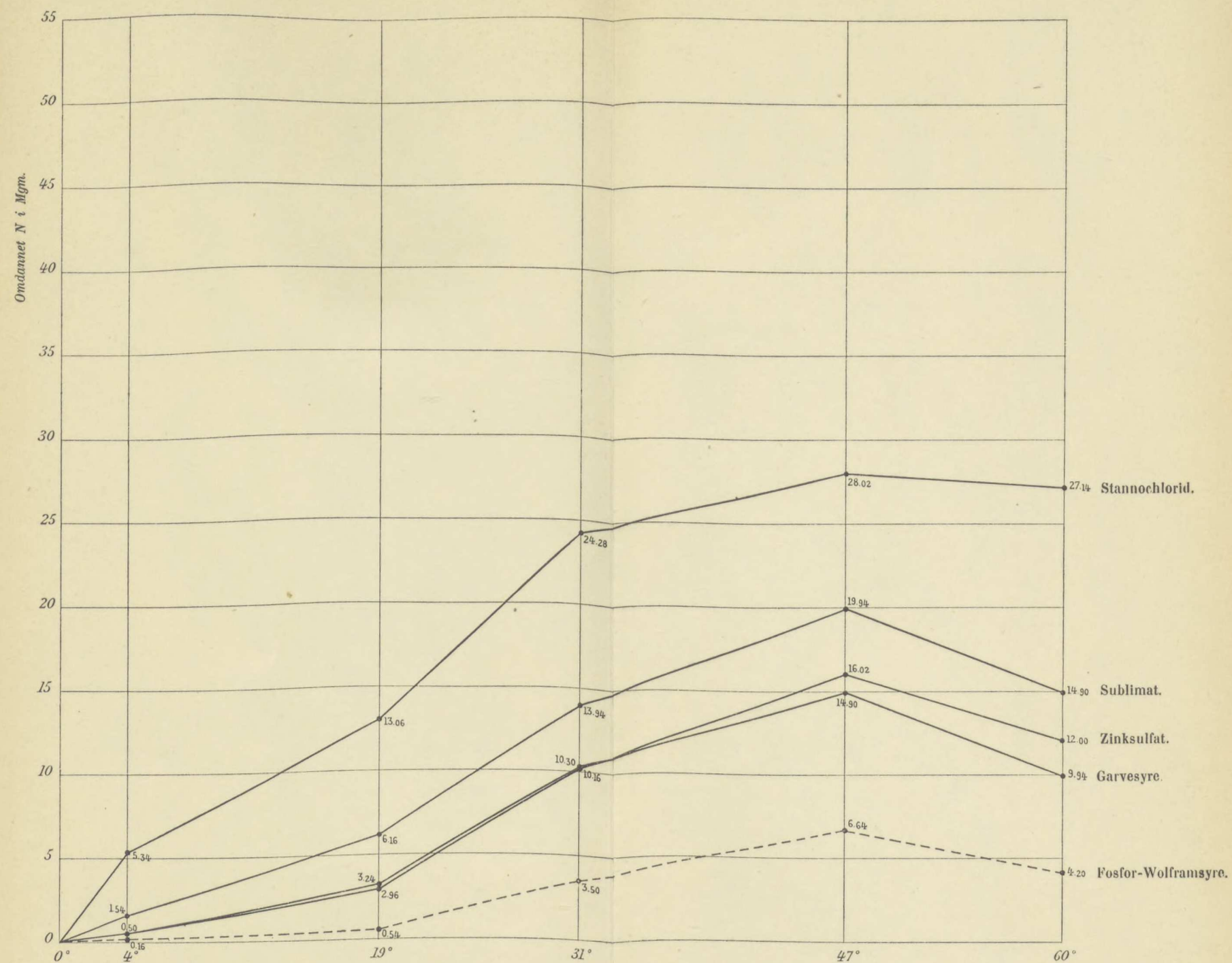


De proteolytiske Spaltningsprodukter.
(Fældninger efter 3 Timer ved forskellige Temperaturer.)

Fr. Weis: Proteol. Enzymer.



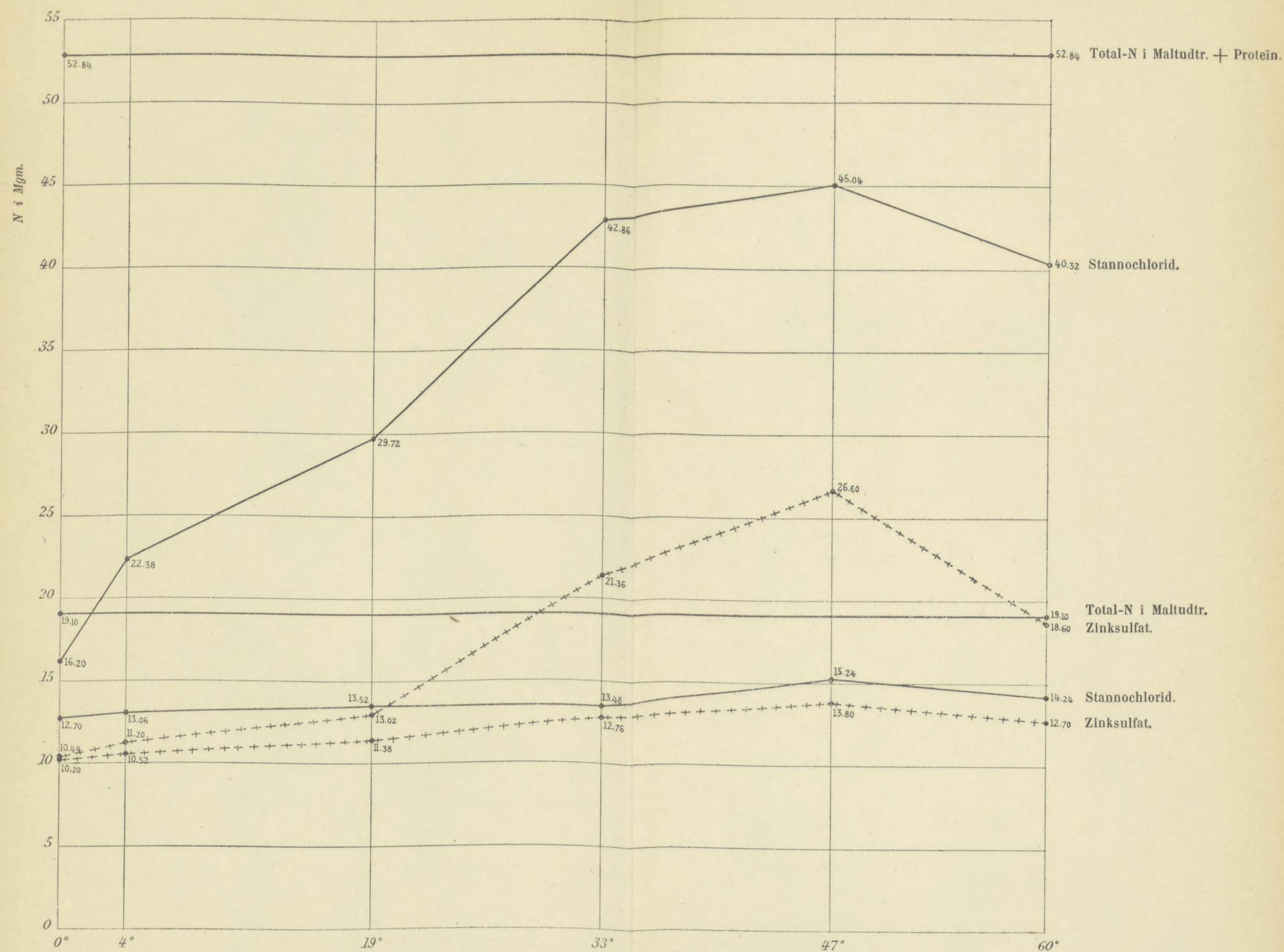
Geological cross-section of the [illegible] region, showing the distribution of various geological formations and their relative positions.



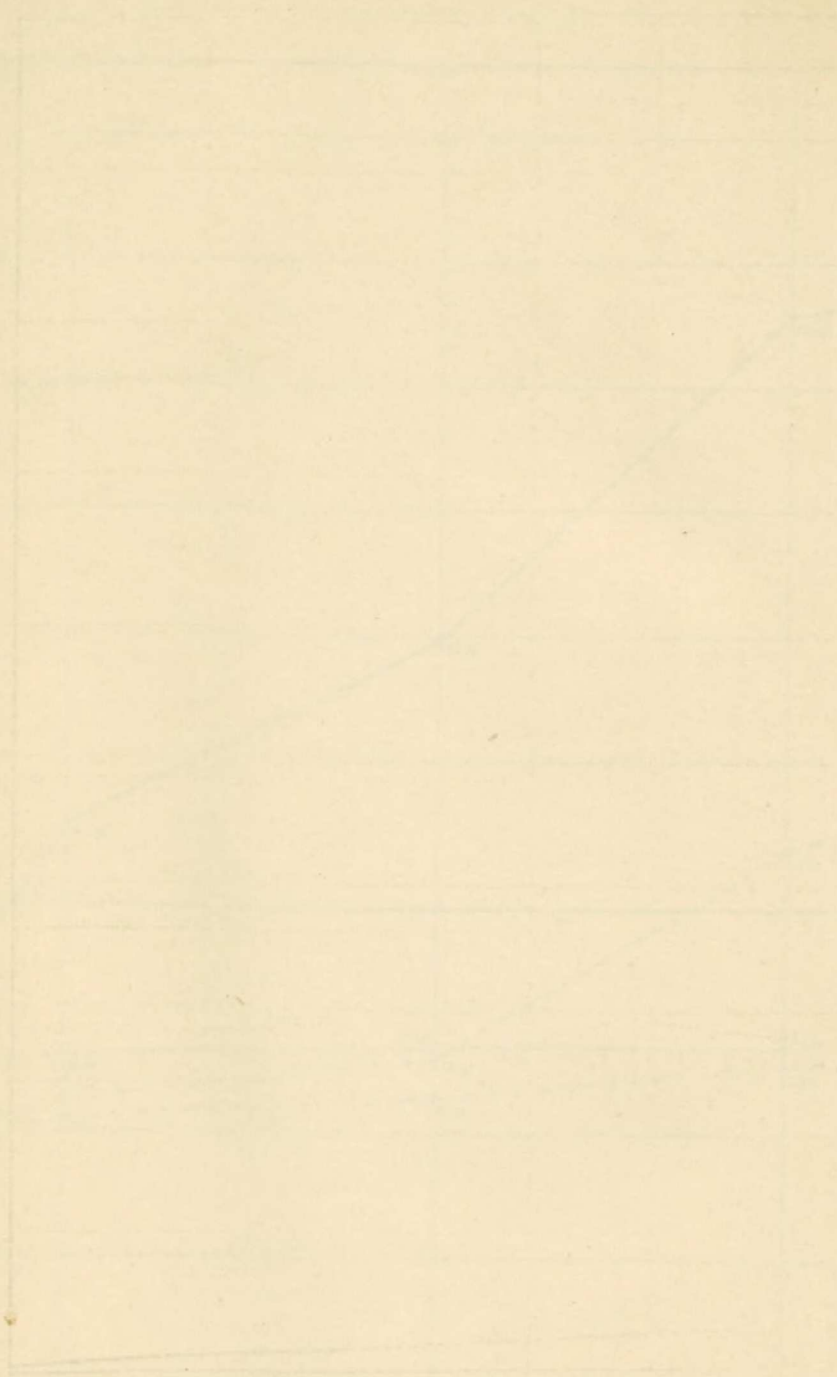
De proteolytiske Spaltningsprodukter.

(Fældninger efter 3 Timer ved forskellige Temperaturer.)

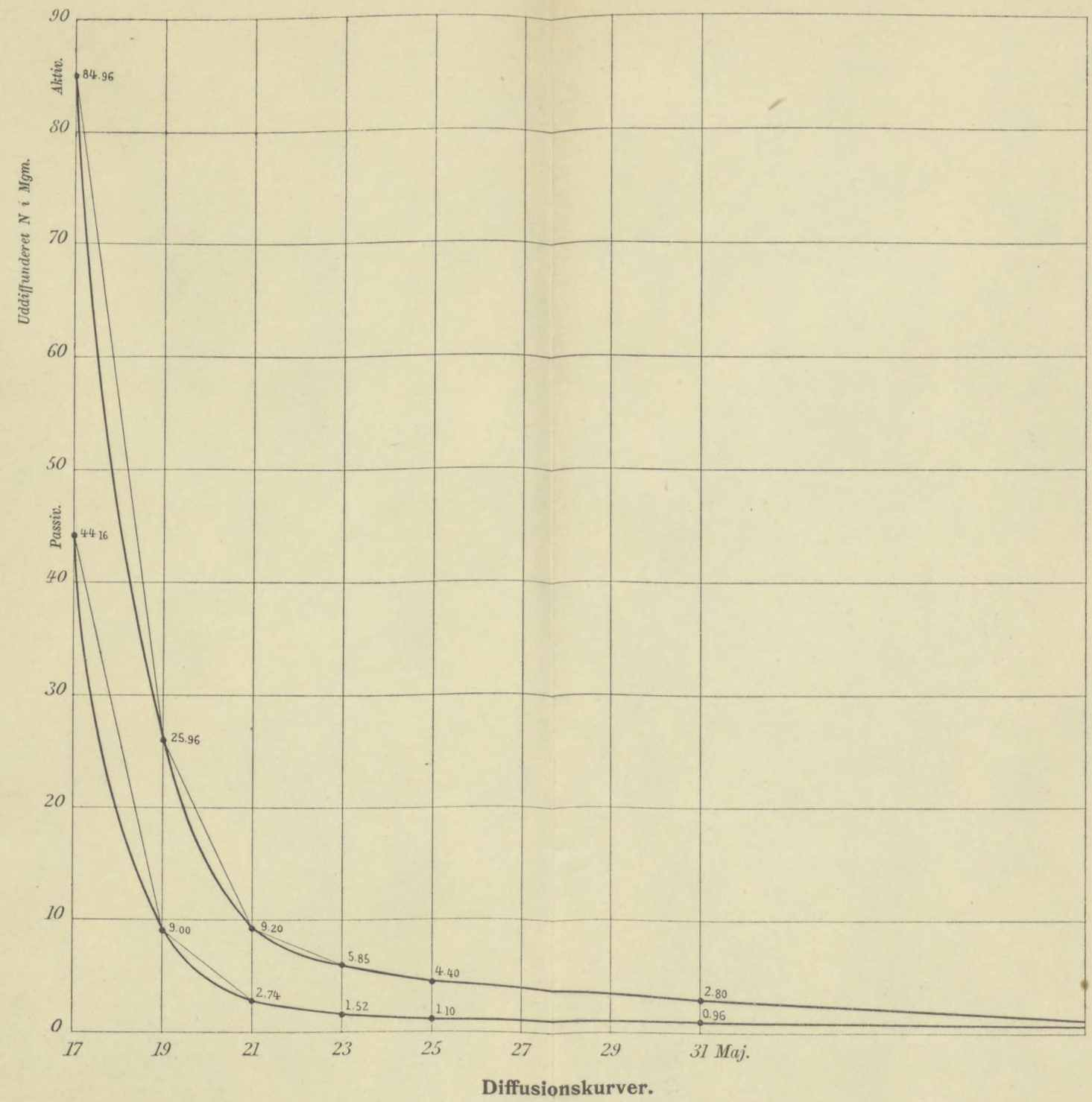
Tavle XV.

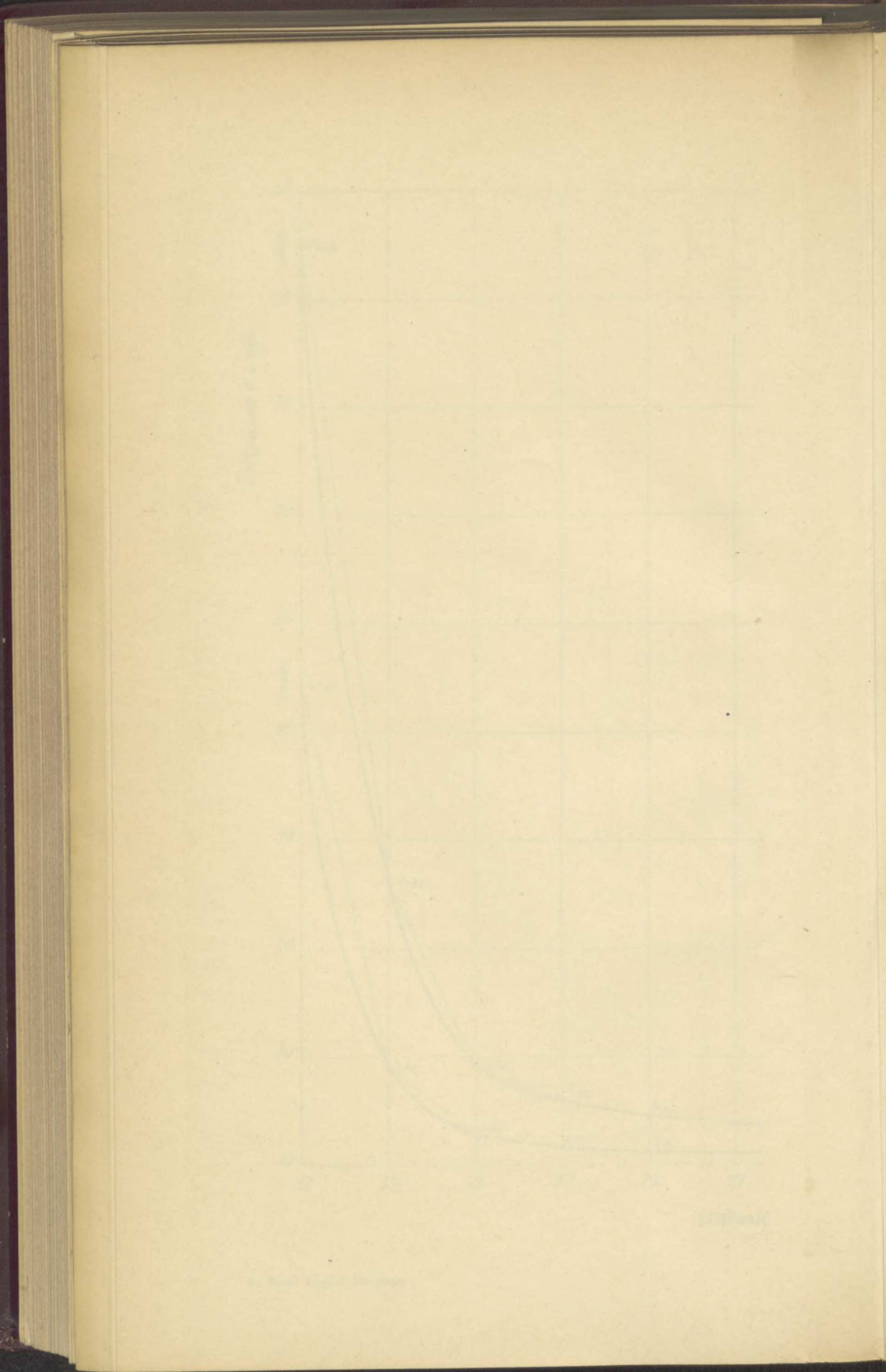


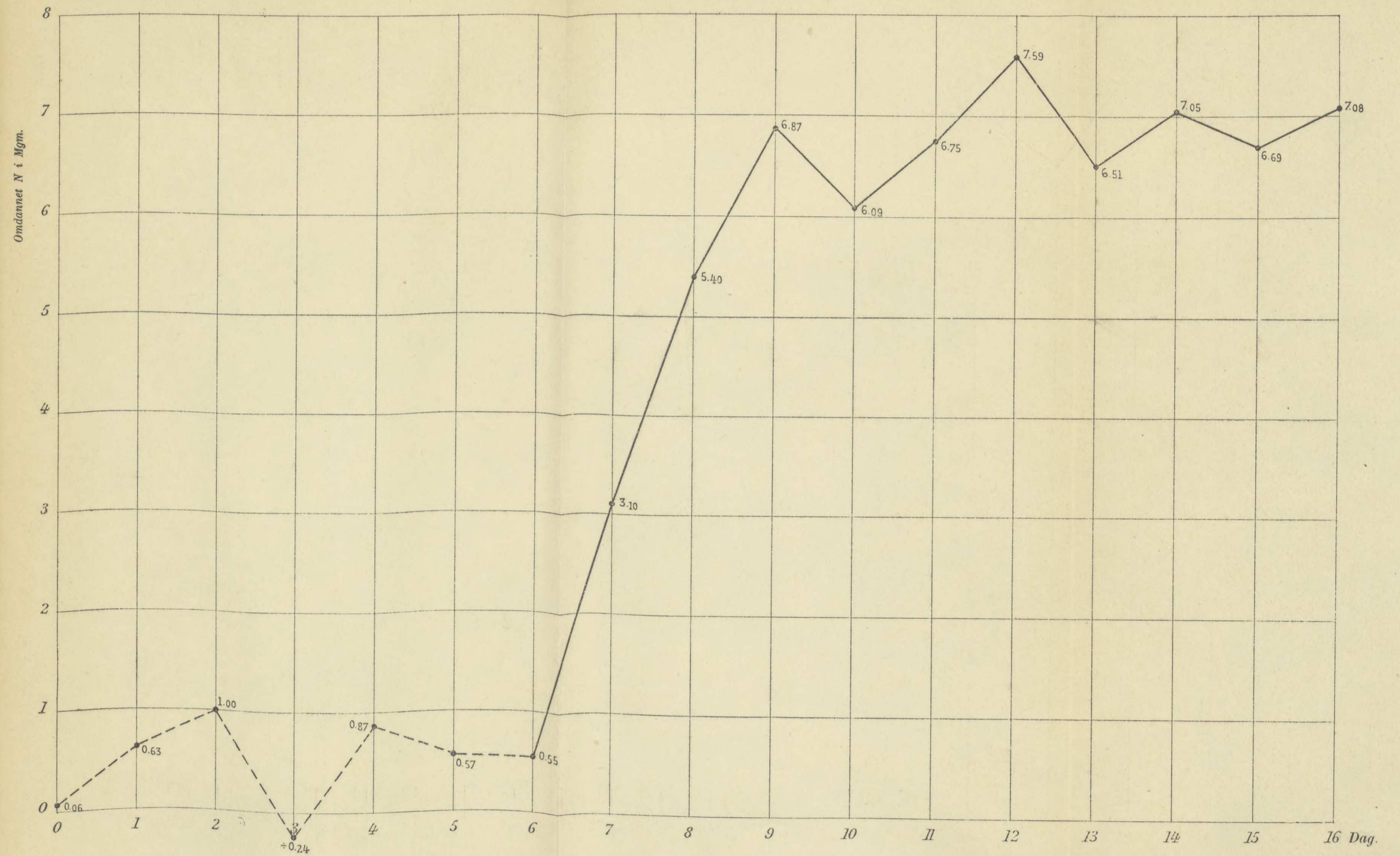
De proteolytiske Spaltningsprodukter.
(Fældninger efter 3 Timer ved forskellige Temperaturer).



Handwritten text at the bottom right of the page, possibly a signature or a note.







Tryptasens Optræden under Spiringen.

