Utrecht University Library
Partner in Science
Universiteit Utrecht

Over de bepaling van het gehalte aan pepsine in natuurlijk en kunstmatig maagsap

https://hdl.handle.net/1874/295031

Over de bepaling van het gehalte aan Pepsine in natuurlijk en kunstmatig Maagsap

DOOR L. J. GESELSCHAP



OVER BEPALING VAN HET GEHALTE AAN PEPSINE IN NATUURLIJK EN KUNSTMATIG MAAGSAP

Diss Utrecht 90 1915

OVER BEPALING VAN HET GEHALTE AAN PEPSINE IN NATUURLIJK EN KUNSTMATIG MAAGSAP.

PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS DR. H. SNELLEN, JR., HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE, VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT, TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE TE VERDEDIGEN OP DINSDAG DEN 30EN MAART 1915, DES NAMIDDAGS TE 4 UUR, DOOR

LODEWIJK JOHANNES GESELSCHAP,

ARTS

GEBOREN TE VLISSINGEN.



In Libris Sapientia

A. H. KRUYT — UITGEVER — AMSTERDAM



AAN MIJNE OUDERS

EN

AAN MIJNE AANSTAANDE VROUW

Het is met een gevoel van weemoed, dat ik me aan 't schrijven zet van deze regelen, daar nu toch een tijdperk in mijn leven wordt afgesloten, dat zeker het meest onbezorgde zal zijn geweest; tegelijk echter met een gevoel van groote dankbaarheid, dat ik onder Uwe leiding, Hooggeleerde PEKELHARING, Hooggeachte Promotor, mijn proefschrift heb mogen bewerken. Ook langs dezen weg breng ik U gaarne mijn dank voor de leiding, medewerking en vriendschap, waarvan ik zoo ruimschoots mocht genieten.

Dat het werken in Uw laboratorium ook voor mijn verder leven van groote beteekenis moge zijn.

Ook U, Hoogleeraren en Lectoren der Medische- en Philosophische Faculteiten, betuig ik mijn erkentelijkheid voor het van U genoten onderwijs en voor de practische vorming, die van U uitging. Helaas, dat de dood reeds een der Uwen, in de kracht van het leven, uit Uw midden moest wegrukken.

De nagedachtenis van Professor HEILBRONNER blijft ook mij in dankbare herinnering.

Ook U, ZeerGeleerde RINGER, dank ik voor de hulp, die ik nooit tevergeefs behoefde in te roepen, maar bovenal voor de vriendschap, die ik van U mocht ondervinden.

Ten slotte een woord van dank aan U, mijn academie-vrienden; Uwe vriendschap zal me steeds in aangename en dankbare herinnering blijven. Moge zij ook buiten het academieleven blijven voortduren.

INHOUD

Inleiding . . . . . Blz. 1

Hoofdstuk I: Methoden . . . . . „ 4

„ II: Pepsine-regels . . . . . „ 32

„ III: Eigen Onderzoek . . . . . „ 81

Methode van Mett . . . . . „ 83

Methode van Grützner . . . . . „ 106

Methode van Volhard . . . . . „ 128

Methode van Sörensen . . . . . „ 132

Methode van Fuld-Levison . . . . . „ 133

Bepaling van het gehalte van maagsap aan pepsine voor klinische doeleinden . . . . „ 145

STELLINGEN

I

Ten onrechte meent Nagel, dat het gelukt zou zijn pepsine te bereiden, bevrijd van eiwit.

II

Het al of niet ontbreken van pepsine in urine is geen differentieel diagnosticum tusschen achylia gastrica en carcinoma ventriculi.

III

Bij het klinisch onderzoek met behulp van de dialyseermethode van Abderhalden zijn naast specifieke-, zeker ook niet-specifieke enzymen in 't spel.

IV

Bij stuitligging moet na de geboorte van de stuit, de baring tot een einde gebracht worden.

V

Indeuking van den schedel van neonati trachte men slechts bij uitzondering met behulp van instrumenten op te heffen.

VI

De operatie van Trendelenburg bij embolie van de arteria pulmoralis is te verwerpen.

VII

De lap van Home ontstaat niet uit de portio intermedia prostatae.

VIII

Het is onmogelijk een frequentie-cijfer te geven van het ontstaan van carcinoma uit ulcus ventriculi.

IX

De proeven van Falta, Rudinger en Eppinger, waarin, na exstirpatie van de glandula thyreoïdea, adrenaline geen glycosurie veroorzaakte, hebben geen waarde voor de studie van het verband tusschen glandula thyreoïdea en chromaffine-systeem.

X

Het is niet geoorloofd tusschen gland. thyreoïdea en parathyreoïdea een antagonistische werking aan te nemen.

XI

De theorie van Schanz over het ontstaan van cataracta senilis is onjuist.

XII

De theorie van Behr over het ontstaan van opticus-aandoening bij torenschedel is het meest aannemelijk.

XIII

De oorzaak van de paraplegische vorm van de ziekte van Little wordt ten onrechte gezocht in partus praematurus.

XIV

Ten onrechte leidt Düker uit zijn proeven af, dat de erythrocyten de dragers zijn van de thrombocyten.

XV

Phrenicotomie bij longaandoeningen is te verwerpen.

XVI

Het ware wenschelijk voor typhuspatienten wettelijk ziekenhuisbehandeling te kunnen voorschrijven.

XVII

De theorie van Zuntz over de spiercontractie is niet te aanvaarden.

INLEIDING

J. Müller [1]) was de eerste, die duidelijk uitsprak, dat het maagsap naast het zoutzuur nog een onbekende stof moest bevatten, die met het zuur aan het maagsap zijn digereerend vermogen verleende. Hij schreef toch in zijn „Handbuch der Physiologie des Menschen" deze woorden: „Alles überzeugt uns daher, dasz das wirksame Princip im Magensaft ein noch unbekannter organischer Stoff ist, der auf dieselbe Art wirkt, wie die Diastase auf das Stärkemehl, indem er dasselbe auflöst."

Spoedig zijn toen enkele onderzoekingen gevolgd, om te bepalen, waar die onbekende stof gevormd wordt.

Eberlé [2]) meende, dat ze in het maagslijm gevormd werd. Hij toonde aan, dat niet het zuur alleen of het maagslijm als zoodanig het verterend vermogen bezat, maar dat het zure-maagslijm eiwitstoffen kan verteren. Bovendien was hij de eerste, die aantoonde, dat bij dit proces de eiwitstoffen in chemischen zin een verandering ondergaan.

Door proeven maakten *Schwann en J. Müller* [3]) het echter waarschijnlijk, dat die stof, weldra pepsine genoemd, in den maagwand werd gevormd.

Zij toch konden pepsine uit rundermagen extraheeren door zoutzuur of azijnzuur.

In hetzelfde jaar verscheen een onderzoek van *Schwann* [4]) waarbij hij een extract van het slijmvlies van rundermagen bereidde, door dit gedurende 24 uur bij 32° R. uit te trekken door middel van zoutzuur. Hij filtreerde de vloeistof door linnen, daarna door papier. Hij liet verschillende verdunningen van dit extract op eiwitlamellen werken. Hij ging den tijd na, dien verschillende verdunningen noodig hadden om het eiwit op te lossen en zag dat mengsels met 4—8 % van het oorspronkelijke extract,

---

1) *J. Müller:* Handbuch der Physiologie des Menschen. 1834. Bd. I. S. 531.

2) *Eberlé:* Physiologie der Verdauung. 1834, gecit. naar Schwann.

3) *J. Müller en Schwann:* Versuche über die künstliche Verdauung des geronnenen Eiweisses. Müller's Archiv, 1836. S. 66.

4) *Th. Schwann:* Ueber das Wesen des Verdauungsprocesses. Müller's Archiv. 1836, S. 90.

sneller digereerden dan het onverdunde extract. Echter begint pas met *Brücke* de groote reeks van onderzoekingen met verschillende methoden om het gehalte aan pepsine van maagsappen te bepalen.

Sedert dien tijd zijn talrijke methoden aangegeven en gewijzigd. Zeker een bewijs, dat geen der methoden aan alle eischen voldoet.

Maar niet alleen door het feit, dat zoo vele methoden zijn uitgedacht, om het gehalte aan pepsine te bepalen, maar ook hierdoor wordt men getroffen bij de bestudeering van de litteratuur, dat er onder de onderzoekers zulk een groot verschil van meening bestaat over het verband tusschen hoeveelheid pepsine en vertering, resp. de digestie en den tijd, gedurende welken gedigereerd wordt.

Zeker wordt dit laatste voor een groot deel verklaard juist door de verschillende manier, waarop de stand der digestie bij de verschillende methoden wordt bepaald.

Zoo heeft men van digestievloeistoffen bestudeerd de veranderingen, die deze ondergingen in physischen of in chemischen zin onder invloed van de pepsine. Men ging meestal slechts een deel van den arbeid na, door het enzym verricht; men bepaalde of één of meer splitsingsproducten, terwijl meestal onbekend was op welke wijze deze verschillende producten uit elkander of uit het te verteren eiwit worden gevormd.

We mogen ons dan ook eigenlijk niet verwonderen over het gebrek aan overeenstemming in de uitkomsten. Integendeel, het betrekkelijk onvolledige en willekeurige in de gevolgde methoden aan de eene zijde, en de samengesteldheid van de wijze, waarop de eiwitstoffen door de pepsine worden gesplitst, aan de andere zijde, zouden a priori geen eenvoudige verhoudingen mogen doen verwachten.

Zonder twijfel is bovendien van klinische zijde het vraagstuk menigmaal, zoo niet geheel genegeerd, dan toch zeer stiefmoederlijk behandeld. Immers wordt door menig klinikus het pepsine-gehalte van maagsappen alleen in uitzonderingsgevallen bepaald.

Ook is wel door sommigen, o.a. door *Blum en Fuld*[1]) aangeraden, in plaats van het pepsine-gehalte, te bepalen de hoeveelheid leb, daar beiden steeds in dezelfde verhouding zouden worden afgescheiden.

Ik zal mij niet bezig houden met de vraag, in hoeverre zulke opvattingen gewettigd zijn, daar toch stellig uit een wetenschappelijk oogpunt de bepaling van pepsine van de grootste beteekenis is.

---

1) *Blum en Fuld:* Die Bestimmung des Fermentgehaltes etc.: Biochem. Zeitschr. Bd. IV 1907. S. 64.

Ik onderzocht van eenige methoden hare betrouwbaarheid en ging daarbij na in hoeverre in de uitkomsten bepaalde regels of wetten te ontdekken waren.

Voordat ik echter deze onderzoekingen bespreek, zal ik eerst een overzicht geven over de belangrijkste methoden en daarna nagaan in hoeverre met deze methoden bepaalde regels of wetten zijn opgesteld.

HOOFDSTUK I

METHODEN

Bij de beschrijving der methoden, zal ik den weg volgen, reeds vroeger door anderen gevolgd, o.a. door *Korn* [1]) en *Waldschmidt* [2]), waarbij ze in verschillende groepen verdeeld worden. Aan deze groepeering ligt dan telkens een gemeenschappelijk beginsel ten grondslag. Hierdoor wordt het mogelijk een beter overzicht te krijgen over de verschillende methoden.

Ten deele althans is deze indeeling willekeurig, daar men sommige methoden, zoowel in de eene als in de andere groep zou kunnen rangschikken.

Terloops zal ik dan de min of meer belangrijke wijzigingen, die aan bijna iedere methode zijn aangebracht, vermelden.

Aldus krijgen we vier groepen:

I. die methoden, waarbij na eenigen tijd het niet-verteerde gedeelte van het substraat bepaald wordt;

II. die methoden, waarbij de tijd wordt bepaald, noodig om een gegeven hoeveelheid substraat volkomen op te lossen;

III. die methoden, waarbij na bepaalde tijden de hoeveelheid digestieproducten wordt bepaald;

IV. de methode van *Mett.* Deze toch onderscheidt zich van alle methoden, doordat bij haar de oppervlakte van het eiwit, die aan de werking van het enzym is blootgesteld, constant blijft.

Groep I

De eerste methode uit deze groep is die van *Bidder en Schmidt.* [3]) Zij lieten stukjes gecoaguleerd eiwit van bekend gewicht, in zakjes van neteldoek digereren gedurende 18—20 uur bij 40° C. Na de digestie droogden zij het onverteerde eiwit bij 120° C., wogen dit en konden aldus de hoeveelheid verteerd eiwit bepalen. Deze methode is o.a. gebruikt

1) *Korn:* Ueber Methoden Pepsin quantitativ zu bestimmen. Med. Diss. Tübingen 1902.

2) *Waldschmidt:* Ueber die verschiedene Methoden Pepsin und Trypsin quantitativ zu bestimmen. Pflüger's Archiv. Bd. 143. S. 189. Jahrg. 1912.

3) *Bidder u. Schmidt:* Die Verdauungssäfte und der Stoffwechsel. 1852. S. 75.

door *Ebstein en Grützner* [1]) bij hun onderzoek over de plaats, waar de pepsine in de maag wordt gevormd. Eenvoudiger zou men naar *Grützner* [2]), uitgaande van een bepaald stukje eiwit, kunnen berekenen de hoeveelheid onverteerd eiwit, door dit in een maatglaasje te brengen.

Men zou dan het volume van het onverteerde eiwit kunnen bepalen, door het volume van het water, dat door het eiwit uit het maatglaasje verdrongen werd, te meten.

Verschillende onderzoekers hebben geëxperimenteerd met eiwit in oplossing.

Thomas en Weber [3]) bereidden een caseineoplossing. Na de vertering sloegen zij de onverteerde caseine neer door middel van natriumsulfaat, verzamelden dit op een filter, droogden en wogen het. Hetzelfde deden zij met een contrôle zonder pepsine.

Krüger [4]) coaguleerde het onverteerde eiwit door koken, filtreerde en bepaalde het gewicht van het neergeslagene, terwijl *Müller* [5]) het op een filter verzamelde, onverteerde eiwit bepaalde door een stikstofbepaling naar *Kjeldahl.*

Herzog en Margolis [6]) brachten ovalbumine tot stolling door verwarming met verzadigd natriumsulfaat en salpeterzuur op een waterbad. Het precipitaat waschten zij uit met water en alkohol, droogden het bij 120—130° C. en wogen het. Hun gemiddelde fout zou bij gebruik van 0.5—0.05 gr. eiwit ± 4 mgr. bedragen.

Zeker is de meest bekende methode uit deze groep, de methode van *Hammerschlag* [7]). Vooral onder de klinici heeft zij jaren lang vele vereerders gekend, maar toch is zij op den duur voor betere methoden moeten wijken.

Hammerschlag maakte een 1% eiwitoplossing, die ± 4‰ vrij zoutzuur

---

1) *Ebstein u. Grützner:* Ueber den Ort der Pepsinbildung im Magen. Pflüger's Archiv. Bd. VI. 1872. S. 1.

2) Gecit. bij *Korn:* Med. Diss. Tübingen. 1902. S. 22.

3) *Thomas u. Weber:* Centrallblatt für Stoffwechsel- und Verdauungskrankheiten. IIe Jahrg. No. 14. Geciteerd naar Volhard.: Münch. Med. Wochenschrift Jahrg. 1903. No. 49. S. 2129.

4) *Krüger:* Zur Kenntnis der quantitativen Pepsinwirkung. Zeitschr. für Biologie. Bd. 41. 1901. S. 378.

5) *A. Müller:* Ueber der Einflusz neutraler Salze etc. Zeitschr. für physiol. Chemie. Bd. 48. 1906. S. 187.

6) *Herzog u. Margolis:* Ueber die Einwirkung von Pepsin auf Ovalbumin. Zeitschr. für physiol. Chemie. Bd. 60. 1909. S. 298.

7) *Hammerschlag:* Untersuchungen über das Magencarcinom. Archiv für Verdauungskrankheiten. Bd. II. 1896. S. 1.

zou moeten bevatten. Voor een proef nam hij 2 porties van 10 cM³, deed bij de eene portie 5 cM³ maagsap, bij de andere 5 cM³ water, liet nu beide 1 uur bij 37° C. in den thermostaat. Daarna bepaalde hij van beide het eiwitgehalte naar *Esbach*, bv.

A. contrôle met water: 6‰ eiwit.

B. met maagsap: 3‰ „ , dan was 50% van het eiwit verteerd.

Hammerschlag zelf vestigde de aandacht op het feit, dat een negatief resultaat met zijn methode, nog niet de aanwezigheid van pepsine in een maagsap uitsloot. Immers een proef met een fibrinevlok, ja zelfs met een schijfje eiwit kon dan nog positief uitvallen.

Schüle [1]) nam slechts 3 cM³ maagsap en liet na de digestie en het toevoegen van het reagens van *Esbach*, de buisjes 24 uur staan, alvorens hij de hoeveelheid onverteerd eiwit bepaalde. Bovendien gaf hij den raad de op de buisjes van *Esbach* voorkomende verdeeling te controleeren.

Gintl [2]) is zeer tevreden over de methode en raadt haar vooral klinici aan.

Kövesi [3]) loste een kunstmatig (welk?) eiwitpraeparaat op in 4 ‰ zoutzuur. *Troller* [4]) bereidde een 1 % protogeen oplossing, *Bachmann* [5]) een 0,8—1,1 % eiwitoplossing en *von Aldor* [6]) nam op 100 cM³ water 10 cM³ vleeschsap „Puro" en 25 cM³ zoutzuuroplossing van 1 op 5.

Vooral door *Oppler* [7]) en *Roth* [8]) is de methode van *Hammerschlag* aan scherpe kritiek onderworpen.

Oppler noemde als bronnen van fouten: 1°. de fouten verbonden aan de methode van *Esbach*, 2°. dat *Hammerschlag* geen rekening hield met het eiwitgehalte van het maagsap, 3°. zou de pepsine niet gelijkmatig in den chymus verdeeld zijn, 4°. zou de duur van digestie, n.l. 1 uur te kort zijn, daar α. de fout van aflezing te groot zou worden en β. bij kleine

---

1) *Schüle:* Ueber die Pepsinabsonderung im normalen Magen Zeitschr. für klin. Medicin. Bd. 33. 1897 S. 538.

2) *Gintl:* Ueber das Verhalten des Pepsins bei Erkrankungen des Magens. Archiv. für Verdauungskrankheiten Bd. IV. 1898. S. 250.

3) *Kövesi:* Untersuchungen aus dem Gebiete der Magenpathologie. Archiv für Verdauungskrankh. Bd. V. 1899 S. 190.

4) *Troller:* Zur Pepsinfrage bei Achylia gastrica. Arch. f. Verdauungskrankh. Bd. V. S. 151.

5) *Bachmann:* Experimentelle Studiën über die diätetische Behandlung bei Superacidität. Archiv für Verdauungskrankh. Bd. V. S. 336.

6) *von Aldor:* Ueber die künstliche Beeinflussung der Magensaftsekretionen. Zeitschr. für klin. Medicin. Bd. 40. 1900. S. 249. Id.: Besitzt das Pepsin eine antizymotische Kraft etc. Berl. Klin. Wochenschrift. Bd. 35. 1898. S. 638.

7) *Oppler:* Beitrag zur Kenntnis vom Verhalten des Pepsins bei Erkrankungen des Magens. Archiv für Verdauungskrankh. Bd. II. 1896. S. 40.

8) *Roth:* Zur Frage der Pepsinbestimmung bei Erkrank. etc. Zeitschr. für klin. Med. Bd. 39. 1900. S. 1.

hoeveelheden van het enzym de werking der pepsine niet voldoende tot uiting zou komen. *Oppler* houdt de methode alleen geschikt voor „Orientierungszwecke".

Roth onderschreef de bezwaren van *Oppler* en noemde zelf nog eenige. Zoo maakt men bij de methode van *Hammerschlag* fouten, wanneer men geen rekening houdt met den zuurgraad van het maagsap. Verder zou na het toevoegen van het reagens van *Esbach* de digestie nog verder gaan.

Schiff[1]) heeft getracht de genoemde bezwaren tegen de methode van Hammerschlag te ontzenuwen. Hij houdt juist den korten digestie-duur vooral voor sterke maagsappen voor een groot voordeel, omdat dan de verschillen scherper uitkomen. De eiwitstoffen uit het maagsap zouden zgn. „hydrierte" eiwitstoffen zijn, die door het reagens van *Esbach* niet worden neergeslagen. Verder zou na het toevoegen van het reagens de digestie niet meer verder gaan. Hij meent, dat het niet in rekening brengen van den zuurgraad van het maagsap geen invloed zal hebben op de digestie, daar de verschillen hierdoor teweeggebracht, zóó gering zijn, dat ze mogen worden verwaarloosd.

Ten slotte heeft *Schiff* het protogeen van *Troller* afgekeurd, daar dit in oplossing slechts 2—3 ‰ te praecipiteeren eiwitstoffen bevat en door vele maagsappen troebel wordt gemaakt. Op zijn beurt is *Schiff* weer heftig bekritiseerd geworden door *Schorlemmer*[2]) Deze vond onder dezelfde condities toch de neerslagen in verschillende buisjes van *Esbach* van verschillende hoogte, o.a. afhankelijk van den tijd, gedurende welken ze gestaan hadden, voordat ze gecontroleerd werden.

Ook zijn contrôle-buisjes gaven verschillende hoeveelheden praecipitaat, afhankelijk van het verschillend neerslaan of van het verschillend eiwitgehalte der oplossingen.

Hij ging na den invloed van het reagens van *Esbach*, zoowel op albumosen als peptonen. Beide werden er door gepraecipiteerd, alsook de albumosen van het maagsap, zoodat men deze geenszins mag verwaarloozen. Ook hij vond, dat na het toevoegen van het reagens de vertering nog verder gaat, en dat de aciditeit te veel in de verschillende proeven uiteenloopt. Hij gelooft zelfs, dat soms het zoutzuur-optimum wordt overschreden.

Naar ik meen terecht, gaf *Schorlemmer* aan de methode van *Mett* dan

---

1) *Schiff:* Beiträge zur Physiologie und Pathologie der Pepsinsekretion. Archiv für Verdauungskrankh. Bd. VI. 1900. S. 107.

2) *Schorlemmer:* Untersuchungen über die Grösse der Eiweissverdauenden Kraft etc. Berl. Klin. Wochenschrift. 1902. No. 51. S. 1193. Id.: Untersuchungen etc. Archiv für Verdauungskrankheiten Bd. VIII. 1902. S. 299.

ook verre de voorkeur boven die van *Hammerschlag*, ofschoon later o.a. *Robin* [1]) nog de laatste verkoos.

Ook *Bettmann en Schroeder* [2]) zagen, dat door het reagens van *Esbach* de peptonen ten deele worden gepraecipiteerd. Wanneer zij de digestievloeistof na de vertering behandelden met trichloor-azijnzuur en daarna centrifugeerden, dan konden ze in de vloeistof met het reagens van *Esbach* nog een tweede neerslag verkrijgen, bestaande uit peptonen.

Zij wijzigden daarom de methode aldus: zij maakten een 1 % eiwitoplossing in 0.2 % zoutzuur, brachten deze 12 uur bij 38° C. Hiervan namen ze telkens 10 cM³ in buisjes (verdeeld in 15 cM³), vulden aan tot 15 cM³ met maagsap, voor de contrôle met 0.2 % zoutzuur. Ze lieten 70 minuten digereeren bij 38° C. Zij kozen dezen tijd, omdat dikwerf het pepton pas na 40 à 50 min. „en masse" uit de primaire splitsingsproducten werd gevormd. Zij vonden dan nl. een plotseling toenemen van de digestieproducten.

Na de digestie vermengden ze 10 cM³ met 5 cM³ 10 % trichloor-azijnzuur, schudden en centrifugeerden gedurende 2 uur, tot het centrifugaat constant bleef. De centrifugebuisjes waren verdeeld in 15 cM³, terwijl de onderste cM³ nog verdeeld was in $^1/_{50}$ cM³.

Bv. contrôlebuisje: sediment 25 × $^1/_{50}$ cM³.

Digestiebuisje: „ 10 × $^1/_{50}$ cM³.

Dus verteerd: 15 × $^1/_{50}$ cM³ van 25 × $^1/_{50}$ cM³ sediment.

Op 100 cM³ zouden 60 cM³ verteerd zijn. Derhalve bedroeg de digestie 60 % van het aanwezige eiwit.

In ons land heeft *van Spanje* [3]) over de methode geschreven. Hij schijnt de genoemde bezwaren tegen haar niet te deelen. Hij vond, dat een eiwitoplossing altijd een constant praecipitaat gaf; dat 1 uur digestie voldoende was, daar langer durende digestie soms in 't geheel geen praecipitaat meer gaf. Of de digestie na het toevoegen van het reagens van *Esbach* nog verder gaat, onderzocht hij door in zulk een digestiemengsel buisjes van *Mett* te leggen, die dan na 24 uur nog geheel onaangetast waren. Daarbij moet echter worden opgemerkt, dat buisjes van *Mett* voor zulk een mengsel al zeer weinig gevoelige indicatoren zijn.

---

1) *Robin:* Ueber das Verhalten des Pepsins bei verschiedenen Magenkrankheiten. Archiv für Verdauungskrankh. Bd. X. 1904. S. 242.

2) *Bettman und Schroeder:* Ueber die Bestimmung der proteolytischen Kraft des Magensaftes etc. Archiv für Verdauungskrankh. Bd. X. 1904. S. 599.

3) *van Spanje:* de gebruikelijke Methoden der Pepsinbepalingen en enkele harer toepassingen in de kliniek. Ned. Tijdschr. voor Geneeskunde. 1908. 1e helft No. 11. p. 809.

In den laatsten tijd heeft alleen *P. Cohnheim* [1]) nog geexperimenteerd met de methode van *Hammerschlag*. Hij vermeldt alleen, dat hij met zijn 1 % eiwitoplossing nooit tegenstrijdige uitkomsten verkreeg.

Vervolgens moet ik nog de methode noemen, die door *Kohlenberger* [2]) is aangegeven. Hij liet een stukje gecoaguleerd eiwit van 100 mM^3 12 uur digereeren bij 37° C. in een reageerbuisje met 0.5 cM^3 maagsap en 4.5 cM^3 gekookt maagsap. Na de digestie bracht hij het onverteerde stukje eiwit, na het gedroogd te hebben, in een schaaltje, dat voorzien was van een schaalverdeeling, waarop hij terstond af kon lezen, hoeveel eiwit onverteerd was. Later maakte hij een centrifugebuisje, waarvan de punt den dienst van het schaaltje deed, met 100 mM^3 inhoud. Hierin deed hij het verteringsmengsel, centrifugeerde en bepaalde dan de hoeveelheid onverteerd eiwit. Was bv. na 12 uur al het eiwit verteerd, dan was de sterkte van het maagsap:

$$\frac{10}{10} \times 100 \times \frac{12}{12} = 100 \text{ pepsine eenheden.}$$

Het schaaltje was nl. 10 mM. lang en verdeeld in 10 deelen. Was nog 2.5 deelstreep na 12 uur digestie met onverteerd eiwit gevuld, dan was de sterkte van het maagsap:

$$\frac{7.5}{10} \times 100 \times \frac{12}{12} = 75 \text{ eenheden.}$$

Is de vertering volkomen na 9 uur digestie, dan is de sterkte: $\frac{10}{10} \times 100 \times \frac{12}{9} = 133^1/_3$ eenheid enz.

Later heeft *Kohlenberger* [3]) een tamelijk samengesteld toestel geconstrueerd, de zgn. „Pepsinometer". Voor de uitvoerige beschrijving van het apparaat verwijs ik naar zijn mededeeling. Hij vult een „cuvette" met een inhoud van 100 mM^3 met gecoaguleerd eiwit. Daarna brengt hij op het eiwitcylindertje in de „cuvette" een druppel maagsap met zoutzuur tot 5 cM^3 verdund. De „cuvette" heeft bovendien een schaalverdeeling van 0—100. Na de digestie, die 12 uur bij 37° C. duurt, kan hij direct aflezen op de schaalverdeeling, hoeveel eiwit nog onverteerd is.

---

1) *Paul Cohnheim:* Experimentell-vergleichende Untersuchungen über den klinischen Wert etc. Archiv für Verdauungskrankh. Bd. XVI. 1910. S. 627.

2) *Kohlenberger:* Ueber Proteolyse im Magen. Deutsch. Archiv für klin. Medicin. Bd. 99. 1910. S. 148.

3) *Kohlenberger:* Ueber quantitativen Pepsinnachweis mit Angabe einer neuen Probe. Münch. Med. Wochenschrift 1911. No. 38. S. 2012.

Verder is de constructie zoodanig, dat aan het eene uiteinde van het eiwitcylindertje een luchtledig of een luchtverdunning bestaat, terwijl op het andere uiteinde de dampkringsdrukking werkt. Het is mij niet duidelijk welke voordeelen aan die drukverschillen moeten worden toegeschreven. We zullen *Schorlemmer* zelf[1]) deze laten vermelden. „Die in die Eiweissphase erfolgende Diffusion der Säure und des Pepsins, das in abgemessener Magensaftmenge und in weiteren Röhrchen zur kompletten Wirkung komt, wird dadurch, das auf die Flüssigkeitssäule in dem Messgläschen der Atmosphärendruck wirkt und Paralysatoren sich nicht lediglich nach dem breiteren Teile des Messgläschens im die Säure verteilen, sondern auch allmählich in die Richtung des luftleeren (oder stark luftverdünnten) Raumes abflieszen können, günstig gestaltet."

Ten slotte heeft *Schorer*[2]) refractiebepalingen gedaan, om het onverteerde eiwit te bepalen. Vroeger hadden *Obermayer en Pick*[3]) geconstateerd, dat eiwitoplossingen onder den invloed van pepsine geen verandering in refractie ondergaan, wel onder den invloed van trypsine. *Schorer* bepaalde echter de refractie van een digestiemengsel vóór de digestie, verwijderde na de vertering het onverteerde eiwit en bepaalde nu de refractie van het filtraat met behulp van een refractometer van Pulfrich. Het onverteerde eiwit verwijderde hij door het te coaguleeren en te filtreeren. De refractie was in het laatste geval afgenomen in evenredigheid met de hoeveelheid onverteerd eiwit, die verwijderd was.

Hij werkte met verdunde eiwitoplossingen nl. van 0.5—0.6 %. Zijn refractometer was zoodanig ingesteld, dat voor gedestilleerd water de af te lezen grenslijn viel op schaaldeel 15, bij de temp. van 17.5° C., waarbij hij alle refractometrische bepalingen deed.

Hij bepaalde van zijn eiwitoplossing de refractie en het percentage eiwit uit een stikstofbepaling naar *Kjeldahl*. Hij vond resp. de grenslijn op schaaldeel 17.8 en 0.5 % naar *Kjeldahl*. Was nu van een onbekende eiwitoplossing de refractie bepaald, b.v. de grenslijn op schaaldeel 18.5, dan was het eiwitpercentage te berekenen uit:

$$(17.8—15.0) : (18.5—15.0) = 0.5\ \% : x\ \%\ \text{of}$$

$$x = \frac{0.5 \times 3.5}{2.8} = 0.62\ \%.$$

Zijn bepalingen deed hij met een eiwitoplossing met een refractiewaarde van „grenslijn op schaaldeel 18.5."

---

1) l. c. s. 2014.

2) *Schorer*: Ueber refractometrische Pepsinbestimmung. Med. Diss. Bern. 1908.

3) *Obermayer und Pick*: Ueber Veränderungen des Brechungsvermögens. Hofmeister's Beiträge. Bd. VII. 1906. S. 331.

Hij nam telkens 40 cM³ eiwitoplossing, 4 cM³ n. HCl, 0.1 cM³ maagsap en vulde met de eiwitoplossing aan tot 50 cM³ Hij liet gedurende 24 uur digereeren bij 38° C. Van 10 cM³ van het verteringsmengsel bepaalde hij de refractie vóór de digestie. Na de digestie nam hij 20 cM³ verteringsmengsel, behandelde dit, met n. NaOH en 2 druppels eener 1 % azolitminoplossing als indicator, tot scherpen omslag in het blauw; nu deed hij 1 druppel eener 5 % azijnzuur-oplossing erbij, kookte en filtreerde heet. Dan bracht hij het filtraat met water op 20 cM³ en bepaalde hiervan de refractie, b.v.:

Refractie van het digestiemengsel vòòr de digestie: schaaldeel 20.2
" " " filtraat na de " " 19.0
Verschil = " 1.2

Hij had genomen 50 cM³ digestiemengsel, waarin 46 cM³ eiwitoplossing met refractie-waarde 18.5. Stelde hij dus de refractie-waarde van het mengsel als x (n.l. x = meer dan van water), dan:

$$(18.5—15.0) : x = 50 : 46 \text{ of } x = 3.2 \text{ schaaldeel.}$$

50 cM³ met refractie-waarde 1.0 bevatten $\frac{180}{2} = 90$ m.gr. eiwit. Immers hij had een 0.62 % eiwitoplossing met een refractie-waarde 18.5—15.0 = 3.5 meer dan van aq.dest. De eiwitoplossing met een refractie-waarde van 1 zou dus per 100 cM³ bevatten $\frac{620}{3.5} = \pm 180$ m.gr. eiwit. In 50 cM³ met refractie-waarde 3.2 bevinden zich derhalve $90 \times 3.2 = 288$ m.gr. eiwit.

Het verschil in refractiewaarde nl. 1.2 komt dus overeen met $90 \times 1.2 = 108$ m.gr. eiwit. In de proef was dus verteerd 288 — 108 = 180 m.gr. eiwit.

Hij koos den langen proefduur van 24 uur, om de werking van kleine hoeveelheden pepsine nog te kunnen waarnemen. Slechts ééns vond hij een maagsap, dat in dien tijd al het eiwit verteerd had.

Groep II

Brücke [1]) deed proeven met stukjes gecoaguleerd eiwit of met fibrineklompjes. Hij nam van beide evenveel op het gezicht in reageerbuisjes, waarin verschillende verdunningen van het te onderzoeken maagsap. Hij legde er reeds den nadruk op, dat men den zuurgraad in alle buisjes denzelfden moet maken.

Dan noteerde hij den tijd, waarna het eiwit of de fibrine verteerd was.

1) *Brücke:* Beiträge zur Lehre von der Verdauung. Sitzungs-berichte der mathem. naturw. Classe der Kais. Akademie der Wissenschaften zur Wien. Bd. 37. S. 131. Jahrg. 1859. Id.: Bd. 43. Jahrg. 1861. S. 601. Id.: Vorlesungen über Physiologie 1874. Bd. I. S. 296.

Brücke gaf den raad er door verdunning voor te zorgen, dat de digestietijd minstens 30 minuten bedroeg, omdat dan de tijden bij de verschillende verdunningen verder uit elkander lagen en zoo verschillen in digestie beter uitkwamen.

Later gaf *A. Mayer*[1]) een methode aan om de stukjes gecoaguleerd eiwit nauwkeurig gelijk te maken. In glazen buisjes, die van binnen met vet waren ingesmeerd, liet hij eiwit stollen. Daarna stootte hij het eiwit in den vorm van een cylindertje uit die buizen, droogde boven zwavelzuur en sneed voor 't gebruik gelijke deeltjes af.

Op dergelijke wijzen hebben ook *Boas*, [2]) *Johannessen*[3]) en *Illoway*[4]) de sterkte van maagsappen willen bepalen.

Bettmann en Schroeder[5]) hadden een 1% eiwitoplossing gemaakt. Zij brachten 2 cM^3 van deze oplossing te zamen met 1 cM^3, door 0.4% zoutzuur, viervoudig verdund maagsap in een reageerbuisje. Nu schudden zij krachtig het buisje een 50 maal, waardoor een schuimlaag ontstond boven de vloeistof. Zij lieten digereeren bij 37° C., noteerden den tijd, waarna het schuim verdwenen was. Zij geven dezen tijd aan in minuten als zgn. „Schaum-Index".

Alleen vond ik in de litteratuur dat *Cobb*[6]) met de methode heeft gewerkt. Hij onderscheidde op grond van 't onderzoek met deze methode de maagsappen alleen in: „strong", „very strong" etc.

Spriggs[7]) maakte gebruik van de verandering der viskositeit van eiwitoplossingen onder invloed van de digestie. De bepalingen deed hij met een viskosimeter van *Ostwald.* In zijn proeven onderzocht hij na verschillende tijden van digestie de viskositeit van het digestiemengsel en bepaalde den tijd, waarna de doorstroomingstijd juist 83 sec. bedroeg.

---

1) *A. Mayer:* Einige Bedingungen der Pepsinwirkung quantitativ studiert. Zeitschr. für Biologie. Bd. 17. 1881. S. 351.

2) *Boas:* Diagnostiek und Therapie der Magenkrankheiten. Theil I. 1894. 3e Auflage. S. 187.

3) *Johannessen:* Studiën über die Fermente des Magens. Zeitschr. f. Klin. Med. Bd. 17. 1890. S. 304.

4) *Illoway:* Einfache Methoden zur quantitativen Bestimmung der vom Magen ausgeschiedenen Enzyme. Archiv für Verdauungskrankh. Bd. XI. 1905. S. 144.

5) *Bettmann u. Schroeder:* Ueber die Bestimmung der proteolytischen Kraft des Magensaftes etc. Archiv für Verdauungskrankh. Bd. X. 1905. S. 599.

6) *Cobb:* Contribution to our knowledge of the action of pepsin, with special reference to its quantitative estimation. The American Journal of Physiology. Vol. XIII. 1905. p. 448.

7) *Spriggs:* Eine neue Methode zur Bestimmung der Pepsinwirkung. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 35. 1902. S. 465.

Onder invloed van pepsine en zoutzuur neemt de viskositeit van eiwitoplossingen af.

Deze methode heeft, voor zoover ik heb kunnen nagaan, weinig toepassing gevonden.

Herzog[1]) deed bepalingen bij zijn onderzoek over den invloed van perssap uit Ascaris op pepsine.

Nu zullen we leeren kennen, methoden die vooral in den laatsten tijd veelvuldig zijn gebruikt.

Het eerst verscheen van de hand van *Jacoby*[2]) een mededeeling over de werking van pepsine op een suspensie van ricine in NaCl-oplossing. Hij nam waar, dat de troebele vloeistof door de werking van pepsine helder werd. Op dit beginsel heeft *Solms*[3]) spoedig een methode opgebouwd, de z.g.n. methode van *Jacoby-Solms* of de ricinemethode.

Hij maakte een 1 % oplossing van ricine in 5 % NaCl-oplossing. Telkens bracht hij hiervan 2 cM^3 in een reageerbuisje met 0.5 cM^3 $^1/_{10}$ n. zoutzuur, waardoor een melkachtige troebelheid ontstond. Verder deed hij in de buisjes resp. 0.0; 0.1; 0.2; 0.5; enz. 1.0 cM^3 maagsap, vulde aan tot 3.5 cM^3 met gekookt maagsap. Deze buisjes werden in den thermostaat bij 37° C. geplaatst. Men kon dan waarnemen, na welken tijd de digestievloeistof in de buisjes helder was geworden.

Spoedig verschenen van allerlei kanten mededeelingen over de methode. Meestal echter heeft men in een reeks van verdunningen bepaald, welke verdunning in een bepaalden tijd ($^1/_2$ uur meestal) in staat was de gegeven hoeveelheid ricineoplossing helder te maken.

Zoo deden proeven met de methode, *Witte*,[4]) *Rosenstern*,[5]) *Oguro*,[6]) *Hata*,[7]) *Minami*,[8]) *Shaklee en Meltzer*[9]). Ieder onderzoeker heeft zijn eigen

---

1) *Herzog:* Ueber proteolytische Enzyme. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 39. 1903. S. 305.

2) *M. Jacoby:* Ueber die Beziehungen der Verdauungswirkung und der Labwirkung. Biochem. Zeitschr. Bd. I. 1906. S. 53.

3) *Solms:* Ueber die Neue Methode der quant. Pepsinbestimmung und ihre klinische Verwendung. Zeitschr. für klin. Medicin. Bd. 64. 1907. S. 158.

4) *Witte:* Ueber die neue Methode etc. Berl. klin. Wochenschrift. No. 42. 1907. S. 1338.

5) *Rosenstern:* Untersuchungen über die Pepsinsekretion. Berl. klin. Wochenschr. No. 45. 1908. S. 542.

6) *Oguro:* Ueber die Wirkung des Pepsins etc. Biochem. Zeitschr. Bd. 22. S. 278.

7) *Hata:* Ueber die Sublimathemmung etc. Bioch. Zeitschr. Bd. 17. 1909. S. 156.

8) *Minami:* Ueber die Reaktionen zwisschen Fermenten etc. Bioch. Zeitschr. Bd. 39. 1919. S. 94.

9) *Shaklee and Meltzer:* The destructive effect etc. American Journal of Physiology. Vol. XXV. p. 81. 1909.

wijze van uitvoeren der methode. Zoo varieert o.a. zeer sterk de sterkte van de ricineoplossing.

Einhorn [1]) maakte een toestel, bestaande uit een vacuumglas, dat hij vulde met water van 50 à 60 ° C. en waarin hij een stel met 12 reageerbuisjes kon plaatsen, gevuld met digestiemengsels van verschillende concentratie. Het vacuumglas werd dan goed gesloten en na 30 min. bepaald in welke buisjes er een volledige opheldering had plaats gehad.

Mij dunkt, dat de temp. waarbij althans in het begin de digestie plaats heeft, te hoog is, waardoor zeker de pepsine zal worden beschadigd. Het is mij daarom niet duidelijk in welk opzicht *Einhorn* de methode zou hebben vereenvoudigd.

Ook voor pepsinebepalingen van urine heeft men de methode van *Jacoby-Solms* zeer vaak gebruikt, o.a. *Wilenko*,[2]) *Ellinger en Scholz*,[3]) *Bieling*[4]). Dan moet men natuurlijk de ricineoplossingen verdund nemen en de tijden van digestie verlengen.

Ellinger en *Scholz* hebben later echter in plaats van de ricinemethode, de methode van *Gross* gebruikt, daar ze soms ook in de proeven zonder pepsine opheldering zagen.

In het, vóór korten tijd verschenen boek van *Effront*[5]) heeft hij de ricinemethode zeer aanbevolen, vooral „quand il s'agit d'essais comparatifs".

Men kan, dat is natuurlijk een groot voordeel van de methode, ook bij kamertemperatuur experimenteeren.

Reeds in 1907 heeft *Liebmann*[6]) in plaats van een ricinesuspensie, een suspensie van gecoaguleerd kippeneiwit gebruikt.

Later gaf *Hata*[7]) ook een methode aan met een eiwitoplossing, die bereid was door kippeneiwit fijn te wrijven en te verdunnen met water. Zoo had hij een opalesceerende vloeistof, die door pepsine helder werd. Hij heeft bovendien een methode aangegeven om het eiwit in poedervorm te brengen, nl. in een vacuumklok bij 50—55° C.

Hij zag soms bij proeven met hondenmaagsap, dat een helder geworden

---

1) *Einhorn:* Ueber eine Vereinfachung der Ricinmethode. Berl. klin. Wochenschr. 1908. S. 1567.

2) *Wilenko*: Zur Kenntnis der Pepsinausscheidung. Berl. klin. Woch. 1908. S. 1060.

3) *Ellinger und Scholz:* das peptische Ferment des Harns. Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 99. 1910. S. 221.

4) *Bieling:* Die diagnostische Bedeutung des Harnpepsins bei Magencarcinom. Deutsch. Arch. für klin. Med. Bd. 102. 1911. S. 507.

5) *Effront:* Les catalyseurs biochimiques dans la vie et dans l'industrie. Paris 1914. p. 265.

6) *Liebmann:* Eine neue Methode etc. Gecit. naar Münch. Med. Wochenschr. 1907. S 1550.

7) *Hata:* Ueber die Bestimmung des Pepsins etc. Biochem. Zeitschr. Bd. 23. 1910. S. 179.

digestievloeistof weer troebel werd. Een verklaring van dit verschijnsel durfde *Hata* niet te geven.

Volgens *Rose*[1]) is het een globuline uit de ricine, waarop de reactie berust. Hij meent echter, dat de keuze van ricine een ongelukkige is; vooreerst, omdat de echte ricine juist een albumine is, omdat het verder moeilijk te krijgen is en bovendien zeer giftig.

Rose heeft daarom een globuline bereid uit Pisum sativum. Hiertoe trok hij erwten van Pisum sativum, na ze bevrijd te hebben van de schillen, uit door middel van 10 % NaCl-oplossing. Door verzadiging met ammoniumsulfaat, filtratie, dialyse tegenover stroomend water, scheidde hij de globulinen zoo zuiver mogelijk uit het extract af. Ten slotte had hij een volmaakt heldere globulinen-oplossing in 10 % NaCl-oplossing. Door neutraliseeren met NaOH, dialyse en filtratie, scheidde hij de globulinen af, filtreerde deze en droogde ze bij 40° C.

Voor het gebruik loste hij de globuline op in 10 % NaCl-oplossing, nl. 0.25 gram in 100 cM^3 NaCl-oplossing.

Hiervan bracht hij telkens 1 cM^3 in een reageerbuisje met 1 cM^3 0.6 % H Cl. Dan had hij een troebele vloeistof, waarin het maagsap gebracht werd in verschillende verdunningen, telkens op hetzelfde volume en met dezelfde aciditeit.

Hij liet digereeren bij 50—52° C., of ook bij 37° C.

Rose maakte er opmerkzaam op, dat de troebelheid bij eenzelfde hoeveelheid globulinen o.a. afhankelijk is van den zuurgraad. Volgens zijn tabellen kreeg hij echter geen verschillen bij het gebruik van 0.4—0.1 % H Cl.

Ook *Effront*[2]) gaf een methode om een suspensie van eierenalbumine te bereiden in 0.2 % zoutzuur. Hij noteerde den tijd, waarop het digestiemengsel helder was geworden. Om dit moment te kunnen vaststellen: „on essaie de déchiffrer à travers le tube une lettre de petite dimension tracée à l'encre sur du papier blanc." Ook zou men volgens E. kunnen gebruiken 't fijn gewreven wit van een hard gekookt kippenei bv. 10 gram op 100 cM^3 0.25 % zoutzuur.

Ongeveer gelijktijdig met de methode van Jacoby-Solms verscheen een methode, waarbij men niet de opheldering waarneemt, maar waarbij men onderzoekt na verschillende tijden of men nog door bepaalde reagentia een troebelheid van onverteerd eiwit kan te voorschijn roepen.

---

1) *W. C. Rose:* A Modified Methode for the clinical Estimation of Pepsin. Archives of Internal Medicine 1900. p. 459.

2) *Effront:* l.c. p. 260—262.

Fuld en Levison [1] [2]) maakten een 1 % edestine-oplossing in verdund zoutzuur. Wanneer zij hierop verschillende hoeveelheden eener pepsine-oplossing lieten werken en na een bepaalden tijd, met phenolphtaleïne als indicator, titreerden, zagen ze vóór het omslaan in rood een neerslag ontstaan, waarvan de grootte in omgekeerde evenredigheid stond met de hoeveelheid pepsine. Zij gaven echter weldra het titreeren op, maar trachtten hun doel te bereiken door op de vloeistof een sterke NH_3-oplossing te brengen. Op de grens van beide vloeistoffen ontstond dan een neutrale laag, waarin het aanwezige, onverteerde eiwit praecipiteerde.

Later bereidden zij een 1 ‰ edestine-oplossing in zoutzuur van de aciditeit 30 (30 cM^3 $^1/_{10}$ n. HCl + 70 cM^3 aq. dest.).

In een reeks reageerbuisjes brachten zij telkens 2 cM^3 1 ‰ edestine-oplossing en maagsap in verschillende, afnemende hoeveelheden. Na de digestie brachten zij dan enkele druppels sterke NH_3-oplossing in de reageerbuisjes, om te controleeren of er troebelheid ontstond al of niet, d. w. z. of de edestine nog niet verteerd was of reeds verteerd.

Uit de edestine zou door het zuur edestan gevormd worden, dat bij neutrale reactie neerslaat.

Inplaats van NH_3-oplossing kan men ook een NaCl-oplossing nemen.

Volgens *Fuld* en *Levison* zou men met een 10% NaCl-oplossing ook directe bepalingen kunnen doen, daar des te meer van die zoutoplossing moet toegevoegd worden, naarmate de pepsine-oplossing sterker gedigereerd heeft.

Bovendien zou men met hun methode die van *Jacoby-Solms* kunnen nabootsen, door te werken met een troebele edestine-oplossing. Door een keukenzout-oplossing immers zou men hun edestine-oplossing troebel kunnen maken.

Tal van onderzoekingen zijn ook met deze methode gedaan, waarbij weer elk der onderzoekers zijn eigen wijze van proefinrichting gevolgd heeft. Zoo is de sterkte van de edestineoplossing en de hoeveelheid telkens gevarieerd; eveneens is de temperatuur, waarbij gedigereerd wordt, zeer uiteenloopend, alsook de wijze, waarop na de digestie onderzocht wordt of nog onverteerd eiwit aanwezig is.

Meestal heeft men ook met deze methode de digestie niet gecontroleerd op verschillende tijden, maar op één tijdstip bepaald, welke zwakste

---

1) *Fuld:* Eine neue Methode der Pepsinbestimmung. Münch. Med. Woch. 1907. S. 1454.

2) *Fuld-Levison:* Die Pepsinbestimmung mittelst der Edestineprobe. Bioch. Zeitschr. Bd. VI. 1907. S. 473.

verdunning van het te onderzoeken maagsap de gegeven hoeveelheid edestineoplossing zóódanig kon veranderen, dat met NH_3- of NaCl-oplossing geen troebelheid meer te voorschijn was te roepen.

Feigl [1]), *Togami* [2]), *Wolff en Tomaszewski* [3]), *Kurt Meyer* [4]), *Kudo—Kioto* [5]) volgden vrijwel de methode naar de beschrijving van *Fuld—Levison.*

Indemans [6]) gaf de voorkeur aan NH_3-oplossing, daar NaCl-oplossing volgens hem met maagsap soms ook een troebelheid gaf. Hij gebruikte of een 1 $^0/_{00}$ of een 1 $^0/_0$ edestine-oplossing, en het maagsap in verschillende verdunningen of onverdund, al naar de sterkte van het maagsap.

Lênard [7]) onderzocht het zoutzuur-optimum van verschillende pepsine-praeparaten met de edestinemethode. Had *J. Christiansen* [8]) met de methode van *Mett* gevonden, dat menschelijk maagsap een lager optimum heeft dan dierlijk maagsap, *Lénard* vond juist het tegenovergestelde. Hij schrijft dit verschil toe, aan het onderscheid in de gevolgde methodiek.

Ook *Effront* [9]) bespreekt de methode in zijn boek. Hij onderzoekt echter op troebelheid niet bij daglicht, maar met een gloeilamp. Hij ondervond, dat pepsine zelf soms edestine neerslaat. Volgens een persoonlijke mededeeling van *Dr. Wallerstern* aan *Effront* zou men dit kunnen voorkomen door een kleine hoeveelheid natriumcitraat toe te voegen.

Ook *Bickel* [10]), *Ewald* [11]) en *Grünfelder* [12]) roemen de methode van *Fuld—Levison* als om strijd.

---

1) *Feigl.:* Experimentelle Untersuch. über den Einfluss etc. Bioch. Zeitschr. Bd. VI. 1907. S. 17.

2) *Togami:* Ueber den Einfluss einiger Genussmittel etc. Bioch. Zeitschr. Bd. IX. 1908. S. 453.

3) *Wolff u. Tomaszewski:* Ueber Pepsin und Pepsinbestimmung. Berl. Klin. Woch. 1908. S. 1051.

4) *Kurt Meyer:* Ist das Schützsche Gesetz etc. Berl. Klin. Woch. 1908. S. 1485.

5) *Kudo Kioto:* Ueber die Beziehungen zwischen der Menge etc. Biochem. Zeitschr. Bd. 16. 1909. S. 217.

6) *Indemans:* Het onderzoek der maagfunctie met behulp van bicarbonus natricus en edestine. Ned. Tijdschr. voor Geneeskunde. 1911. I^A pag. 175.

7) *Lénard:* Beitrag zur Kenntnis des Pepsins. Bioch. Zeitschr. Bd. 60. 1914. S. 43.

8) *J. Christiansen:* Einige Bemerkungen über die Mettsche Methode: Biochem. Zeitschr. Bd. 46. S. 257.

9) *Effront:* l.c. p. 264.

10) *Bickel:* Magen und Magensaft. Bd. III. 1e Hälfte v.h. Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere von Oppenheimer. 1910.

11) *Gotfried Ewald:* Ueber die Bedeutung etc. Deutsch. Archiv für klin. Med. Bd. 106. S. 498. 1912.

12) *Grünfelder:* Die Beeinflussing der Magensaftsekretion etc. Zeitschr. für exper. Pathologie und Therapie. Bd. 16. 1914. S. 141.

Junghans [1]) ging op zeer eigenaardige wijze te werk. Hij neutraliseerde het maagsap met soda in substantie, verdunde daarna met 0.12 % HCl, al naar er vrij zuur aanwezig was, 20 tot 10 maal. In een reeks reageerbuisjes bracht hij resp. 1.0; 0.64; 0.4; 0.25; 0.16 en 0.1 cM³ verdund maagsap, in ieder buisje 2 cM³ 1‰ edestine, vulde met physiologische NaCl-oplossing aan tot hetzelfde volume, bracht daarna met 3 % HCl den zuurgraad op 0.4—0.5 %. Nu liet hij de buisjes, na ze krachtig geschud te hebben, bij kamertemp. staan gedurende 30 min. Door middel van 0.3 cM³ koud-verzadigde NaCl-oplossing ging hij dan na, in welk buisje geen troebelheid meer ontstond. Was b.v. 0.25 cM³ 20 × verdund maagsap hiertoe in staat, dan was de sterkte van het maagsap $\frac{20 \times 2 \times 100}{25}$ = 160 eenheden.

Hij zegt, dat de pepsine van het neutraliseeren geen schade ondervond, maar onderzocht niet, of het toevoegen van de physiol. NaCl-oplossing ook invloed op de reactie had.

Ook is het pepsinegehalte van urine met deze methode bepaald o.a. door *Fuld en Hirayama* [2]) en door *Kunimatsu Takeda* [3]).

Door *Gross* [4]) is een caseine-oplossing bereid. Hij loste 1 gram caseine op met 16 cM³ 25 % zoutzuur en water tot 1 Liter vloeistof.

Na de vertering onderzocht hij met enkele druppels geconcentreerden azijnzuren natron of de caseine verteerd was. De caseine zou dan gepraecipiteerd worden, terwijl de caseosen in oplossing blijven.

Shaklee en Meltzer [5]) hebben de caseine-oplossing gebruikt en controleerden met een verzadigde NaCl-oplossing in een 5 % azijnzuur-oplossing den stand der vertering, terwijl *Ellinger en Scholz* [6]) haar bij de pepsinebepalingen van urine gebruikten.

Gottfried Ewald [7]) schijnt naast de methode van *Fuld-Levison* die van *Gross* gebruikt te hebben. Zonder nader aan te geven waarom, schrijft hij, dat de methode „unzureichend" was.

---

1) *Junghans:* Ueber das Verhalten von Pepsin und Trypsin im Mageninhalt: Inaugdissertation. Halle 1910. s. 10 en 12—13.

2) *Fuld und Hirayama:* Ueber den Nachweis der Magenfermente. Berl. klin. Woch. 1910. S. 1062.

3) *Kunimatsu Takeda:* Ueber das Harnpepsin etc. Deutsche Med. Woch. 1910. S. 1807.

4) *Gross:* die Wirksamkeit des Pepsins und eine einfache Methode zu ihrer Bestimmung. Berl. klin. Woch. 1908. S. 643.

5) *Shaklee and Meltzer:* l. c. p. 93. 6) *Ellinger und Scholz:* l. c. S. 225.

7) *Gottfried Ewald:* l. c. S. 513.

Groep III

Verreweg de meeste methoden behooren tot deze groep.

M. Schiff[1]) vermeldde reeds in zijn leerboek, dat men de quantiteit peptonen zou kunnen bepalen met behulp van een aërometer. Later wees *Maly*[2]) erop, dat het beter was de hoeveelheid peptonen te bepalen, dan dat men de oplossing van eiwit naging, want, schreef hij, „das Pepton musz als das eigentliche Verdauungsproduct des Eiweisses gelten. Lösung kann auch durch blosse Bildung von Acidalbumine stattfinden".

Hiertoe verwijderde hij uit het digestiemengsel de onverteerde eiwitstoffen door te koken, na neutralisatie, en te filtreeren. Het filtraat dampte hij in op 't waterbad en droogde bij 120° C. Zoo bepaalde hij door te wegen de hoeveelheid pepton, waarbij hij de zouten in rekening bracht. *Hoffmann*[3]) deed dergelijke proeven, maar liet de stukjes gecoaguleerd eiwit gedurende de digestie door de digestiemengsels op en neer bewegen. *Gruenhagen*[4]) bracht op filters in trechters door zoutzuur gezwollen fibrine. Was het overtollige zoutzuur uit de trechters afgeloopen, dan bracht hij met een pipet eenige druppels maagsap op de fibrine. Door het maagsap ging fibrine in oplossing, zoodat druppels digestievloeistof uit de trechters afliepen. Hij bepaalde na verschillende tijden de hoeveelheden filtraat. In hetzelfde jaar heeft *von Wittich*[5]) deze methode reeds gebruikt. Hij toonde aan, dat bij de sterkere pepsine-oplossingen de filtratie eerder begint dan bij de zwakkere, b.v.:

No.	Begin der digestie.	Hoeveelheid filtraat in 45 min.
1	na 7 minuten.	5 cM³.
2	na 3 minuten.	20 cM³.

Brücke[6]) meende, dat men met de methode van *Gruenhagen* alleen kon schatten, welke van 2 vloeistoffen de meeste pepsine bevatte, maar niet bepalen in welke verhouding beider pepsineconcentratie tot elkander staat.

In denzelfden tijd is *Grützner*[7]) begonnen met een eigen methode, die

---

1) *M. Schiff:* Leçons sur la physiologie de la digestion. 1868. tome I. p. 402.

2) *Maly:* Chemie der Verdauungssäfte und der Verdauung Bd. V. Theil II. 1881 in Handbuch der Physiologie von Hermann. S. 75—77.

3) *Hoffmann:* Ueber Säurewirkung bei der Pepsinverdauung. Schmidt's Jahrbücher der ges. Medizin. Bd. 233. Jahrg. 1902. s. 271.

4) *Gruenhagen:* Neue Methode etc. Pflüger's Archiv. Bd. V. 1872. S. 203.

5) *von Wittich:* Weitere Mittheilungen etc. Pflügers Archiv. Bd. V. S. 435.

6) *Brücke:* l. c. in Vorlesungen etc. Bd. I. s. 299.

7) *Grützner:* Ueber eine neue Methode Pepsinmengen colorimetrisch zu bestimmen. Pflüger's Archiv Bd. VIII. S. 452.

hij bij zijn groote reeks van onderzoekingen over de digestie heeft gebruikt.

Hij kleurde fibrine aanvankelijk met pikrokarmijn, later met ammoniakale karmijnoplossing. Hiertoe hakte hij fibrine, bevrijd van bloedkleurstof, fijn, bracht deze gedurende eenigen tijd in $^1/_4$—$^1/_2$% ammoniakale karmijnoplossing, die zoo min mogelijk overmaat van ammoniak mocht bevatten, waardoor de fibrine donkerrood gekleurd werd. Nu waschte hij de fibrine met water uit, totdat het waschwater kleurloos bleef. Dan bewaarde hij de karmijnfibrine in glycerine.

Voor een proef werd karmijnfibrine, door uitwasschen met water, van de glycerine bevrijd, en daarna in 6 maal haar volume aan zoutzuur van 0.1 % gebracht. Van deze gezwollen fibrine deed hij gelijke klompjes in reageerbuisjes, die 10 cM^3 0.1 % HCl bevatten en bracht dan telkens in ieder buisje 1 cM^3 maagsap in verschillende verdunningen.

Wanneer de fibrine verteerd wordt, zal karmijn vrij komen en dit zal de digestievloeistoffen kleuren.

Om de kleur te beoordeelen, vergeleek hij deze met een standaard, bestaande uit 10 reageerbuisjes met een karmijn-glycerineoplossing van verschillende sterkte.

No. I bevatte: 0.1 cM^3 1 % karmijnglycerine + 19.9 cM^3 water.
„ II „ 0.2 „ „ + 19.8 „ „
„ X „ 1.0 „ „ + 19.0 „ „

Zoo kon hij na bepaalde tijden, om de 5 min. bv., de kleursterkten van de digestievloeistoffen in getallen uitdrukken van I—X.

Door zeer vele onderzoekers is de methode van *Grützner* gebruikt o.a. door *Partsch*,[1]) *Sahli*,[2]) *Gehrig*,[3]) *Korn*,[4]) *Wojwodoff*,[5]) *Oguro*,[6]) *Pfleiderer*,[7]) *Müller*.[8]) *Wroblewski*[9]) schatte de kleursterkte op 't gezicht, waarbij hij volgens zijn tabellen 13 kleuren onderscheidde. Zoo deed ook *Hohmeier*[10]), die 6 kleursterkten wist te onderkennen.

---

1) *Partsch:* Beiträge zur Kenntnis des Vorderdarmes etc. Archiv. für Mikrosk. Anatomie. Bd. 14. 1877. S. 181.

2) *Sahli:* Ueber das Vorkommen von Pepsin etc. Pflügers Archiv. Bd. 36. 1885. S. 209.

3) *Gehrig:* Ueber Fermente im Harn. Pflüger's Archiv Bd. 38. 1886. S. 35.

4) *Korn:* Ueber Methoden Pepsin quantitativ etc. Inaug. Diss. Tübingen 1902.

5) *Wojwodoff:* Ueber die Methoden der Pepsinbestimmung etc. Med. Diss. Berlin. 1907

6) *Oguro*: Ueber eine Methode etc. Biochem. Zeitschr.Bd. 22. S. 267.

7) *Pfleiderer:* Ein Beitrag zur Pepsin und Labwirkung. Pflüger's Archiv Bd. 66. S. 617.

8) *Müller:* Der Einflusz. der Salzsäure etc. Deutsch. Archiv für klin. Med. Bd. 88. 1907. S. 522. id.: Deutsch. Archiv für klin. Med. Bd. 94. 1908. S. 27.

9) *Wroblewski:* Zur Kenntnis des Pepsins. Zeitschr. für physiol Chemie Bd. 21. S. 1.

10) *Hohmeier:* Ueber die Aenderungen etc. Med. Diss. Tübingen 1901.

Landerer [1]) gebruikte de methode als grensmethode. Hij bepaalde nl. na 2—3 urige digestie, welke verdunning van het maagsap nog de digestie-vloeistof kon rood kleuren. Hij schijnt echter geen contrôlebepaling gedaan te hebben zonder pepsine.

Later heeft *Hammarsten* [2]) er nog eens opgewezen, dat de methode van *Grützner* veel gevoeliger is, dan de methode van *Mett.*

Grützner [3]) heeft zelf een verbetering in de methode aangebracht. Hij heeft n.l. een colorimeter geconstrueerd. Dit toestel bestaat uit een standaard, waarin een reageerbuisje en een wigvormig toeloopend vat. In het eerste doet men de te onderzoeken digestie-vloeistof, in het tweede een digestie-vloeistof, om de eerste hiermede te vergelijken.

Vóór beide kan men n.l. een tweetal prisma's op en neer schuiven langs een schaalverdeeling. Kijkt men door het prisma vóór het reageerbuisje, dan valt het licht in het prisma steeds door een vloeistofkolom van dezelfde dikte. Doet men hetzelfde door het tweede prisma, dan ziet men door een vloeistofkolom in het wigvormige vat, waarvan de dikte afhankelijk is van de plaats van het prisma. Door de prisma's op en neer te schuiven, varieert men derhalve de dikte van de vloeistofkolom in het laatste geval. Wanneer men kijkt door de prisma's, ziet men een gezichtsveld, waarvan de eene helft behoort bij het reageerbuisje, de andere bij het wigvormige vat. De colorimeter, waarmede ik proeven deed, had een verdeeling op de schaal van 1—9.0, waartusschen ik nog tiende deelen kon schatten, dus: 0.0, 0.1, etc., 1.0, ... 8.8, 8.9, 9.0. *Waldschmidt* [4]) kleurde fibrine met diphenyl-rosaniline, om de methode ook voor trypsine-bepalingen te kunnen gebruiken, omdat de karmijn door alkaliën spoedig uit de fibrine wordt getrokken.

Daar de vroeger vermelde standaard-oplossingen van karmijn-glycerine spoedig van tint veranderen, heeft *Sahli* [5]) op 2 manieren getracht dit bezwaar op te heffen. Vooreerst maakte hij een standaard-oplossing aldus: 50 cM^3 glycerine, 2.5 cM^3 1‰ glycerine-oplossing van rosanilinesulfonzuren natron en 2.5 cM^3 van een 0.5 ‰ alkoholische pikrinezuur-oplossing. Of ook kleurde *Sahli* de fibrine met berlijnsch blauw en bereidde dan als

---

1) *Landerer:* Ueber das Verhalten von Pepsin etc. Deutsch. Arch. f. klin. Medicin. Bd. 93. 1908. S. 563.

2) *Hammarsten:* Ueber Pepsinarme und Pepsinfreie Chymosinlösungen. Zeitschr. für physiol. Chemie Bd. 74. 1911. s 142.

3) *Grützner:* Ein einfacher Colorimeter etc. *Pflüger's* Archiv Bd. 144. 1912. S. 545.

4) *Waldschmidt:* l. c.

5) *Sahli:* Lehrbuch der klinischen Untersuchungsmethoden. 5e Auflage 1909. S. 521.

standaard-oplossing een oplossing van berlijnsch blauw in $^1/_{10}$ n. oxaalzuur. Beide oplossingen moet men bewaren, afgesloten van lucht en licht.

Ten slotte wil ik nog noemen *Rakoczy* [1]), die in den laatsten tijd proeven deed met fibrine, gekleurd in een zure oplossing van borax-karmijn. Na de kleuring droogde hij de fibrine en maakte ze fijn tot een poeder. Voor elke proef nam hij met een maatje 50 mgr. borax-karmijn-fibrine. Deze fibrine zou minder snel door zoutzuur alleen van zijn karmijn beroofd worden, dan de fibrine van *Grützner.*

Reeds had *von Wittich* [2]) de draaiing van het polarisatievlak door digentievloeistoffen onderzocht met behulp van een polariscoop van *Soleil-Ventzke.* Hij kreeg echter bij vergelijkende proeven over de hoeveelheid peptonen groote verschillen, wanneer hij gewichtanalytisch of polariskopisch, het peptongehalte bepaalde. Later heeft *E. Schütz* [3]) het peptongehalte bepaald met een polaristrobometer van *Hofman-Wild,* nadat hij een globulinen-vrije-albumine-oplossing had laten digereeren.

Het onverteerde eiwit verwijderde hij door neutralisatie en praecipitatie met ijzerchloride.

In een onderzoek, waarin verschillende splitsingsproducten bij de pepsine-digestie afzonderlijk werden bepaald, hebben *E. Schütz en Huppert* [4]) de secundaire albumosen polarimetrisch bepaald. Eerst praecipiteerden zij bij zwak zure reactie de acidalbumine, die dan nauwkeurig gedroogd en gewogen werd. Door koken met ferriacetaat bij neutrale reactie scheidden zij de primaire albumosen af, die zij weer door een gewichtsanalyse bepaalden. Ten slotte berekenden zij op genoemde wijze de hoeveelheid secundaire albumosen.

Uit den laatsten tijd moeten we *Bogdandy* [5]) noemen, die bepalingen deed met een polarimeter van *Schmidt-Haen.* Hij bereidde een 3.5 % caseineoplossing. Na de digestie praecipiteerde hij de onverteerde caseine met een mengsel van natriumsulfaat, magnesiumsulfaat, alkohol en water en bepaalde de draaiing van het heldere filtraat.

---

1) *Rakoczy:* Vergleichende Untersuchungen über die Verdauungsfermente etc. Zeitschr. für physiol. Chemie. Bd. 85. 1913. S. 349.

2) *von Wittich:* l. c.

3) *E. Schütz:* Eine Methode zur Bestimmung der relativen Pepsinmenge. Zeitschr. für physiol. Chemie Bd. IX. 1885. S. 577.

4) *E. Schütz u. Huppert:* Ueber einige quantitative Verhältnisse bei der Pepsinverdauung. Pflüger's Archiv Bd. 80. 1900. S. 470.

5) *Bogdandy:* Quantitative Bestimmung der Pepsinwirkung. Zeitschr. für physiol. Chemie Bd. 84. 1913. S. 18.

Hetzelfde deed *Bogdandy* met een contrôlevloeistof: Het verschil gaf hij dan aan in zijn tabellen. Bovendien deed hij van 't filtraat N-bepalingen naar *Kjeldahl*, waarbij hij tamelijk overeenstemmende resultaten verkreeg.

Zeer vele onderzoekers deden proeven, waarbij gebruik werd gemaakt van stikstof-bepalingen der filtraten, nadat de onverteerde eiwitstoffen gepraecipiteerd waren. Zoo liet *Salkowski*[1]) fibrine digereeren. Hierna neutraliseerde hij met natronloog, kookte, zwak met azijnzuur aanzurend en filtreerde. In 't filtraat bepaalde hij het N-gehalte naar *Kjeldahl*. *Bertels*[2]) nam inplaats van fibrine vloeibaar kippen-eiwit. Op hetzelfde beginsel berustten de proeven van *Dubs*[3]), *Hahn*[4]), *Croner*[5]) en *Levites*[6]). *Oppler*[7]) bepaalde vóór de digestie de hoeveelheid eiwit en na de digestie de hoeveelheid verteerd eiwit, beide naar *Kjeldahl*.

Meer bekend is geworden het onderzoek van *J. Schütz.*[8]) Hierin bepaalde hij op zeer bewerkelijke wijze, na de digestie, de in niet-stolbare stoffen voorkomende stikstof naar *Kjeldahl*. Volgens hem bevat kippeneiwit 3 verschillende groepen van N-houdende stoffen, n.l.: 1°. echte eiwit-stoffen; 2°. ovomucoïde; 3°. niet-eiwitachtige stoffen, als lecithine enz. De eerste groep noemt hij stolbare stikstof bevattende stoffen; de stoffen van de 2e en 3e groep bevatten niet-stolbare stikstof. Bij de digestie zouden de laatsten toenemen ten koste van de eersten.

Een nieuw moment bracht *Sjöqvist*[9]) in zijn experimenten. Hij heeft n.l. poedervormig eiwit laten digereeren, terwijl de fleschjes met digestiemengsels in roteerende beweging waren. Na de digestie centrifugeerde hij met behulp van een laktokriet van *Lavall* het onverteerde eiwit af en bepaalde in de vloeistof het N-gehalte naar *Kjeldahl*. Door de rotatie

---

1) *Salkowski:* Ueber die Zusammensetzung etc. Virchow's Archiv Bd. 120. 1890. S. 354. id.: Ueber die Bindung der Salzsäure etc. Virchow's Archiv Bd. 127. 1892. S. 501.

2) *Bertels:* Ueber den Einfluss des Chloroforms. Virchow's Archiv. Bd. 130. 1892. S. 497.

3) *Dubs:* Der Einfluss des Chloroforms etc. Virchow's Archiv Bd. 134. 1893. S. 519.

4) *Hahn:* Ueber die Einwirkung verschiedener Säuren. Virchow's Arch. Bd. 137. 1894. S. 597.

5) *Croner:* Zur Frage der Pepsinverdauung. Virchow's Arch. Bd. 150. 1897. S. 260.

6) *Levites:* Ueber den Einfluss neutraler Salze etc. Zeitschr. für physiol. Chemie Bd. 48. 1906. S. 187.

7) *Oppler:* Beitrag zur Kenntnis vom Verhalten etc. Archiv für Verdauungskrankh. Bd. II. 1896. S. 40.

8) *J. Schütz:* Zur Kenntnis der quant. Pepsinwirkung. Zeitschr. f. physiol Chemie Bd. 30. 1900. S. 1. id.: Ueber den Einfluss der Pepsin-und Salzsäuremengen etc. Bioch. Zeitschr. Bd. 22. S. 33.

9) *Sjöqvist:* Physiologisch-chemische Beobachtungen über Salzsäure. Skand. Archiv. für Physiologie. Bd. V. 1895. S. 354.

waren natuurlijk de digestie-producten minder storend en had de digestie meer gelijkmatig plaats.

Ook *Sörensen* [1]) heeft de stikstof-bepaling naar *Kjeldahl* gebruikt. Hij liet een acid-albumine-oplossing digereeren, Na de vertering praecipiteerde hij het onverteerde eiwit òf door een 15 % looizuur-oplossing òf door een stanno-chloride-oplossing, filtreerde en bepaalde het N-gehalte van het filtraat.

Reeds vroeger vermeldde ik, dat *Bogdandy* [2]) de *N.* bepaalde. Ten slotte heb ik nog *Effront* [3]) te noemen, die het onverteerde eiwit precipiteert, door eerst te neutraliseeren en daarna door iets azijnzuur aan te zuren en te koken in een autoclaaf bij 100° C. Van het filtraat doet hij dan een stikstofbepaling.

Ook op de biureetreactie der splitsings-producten zijn bepalingen van het pepsine-gehalte gebaseerd. Wel meende *Johannessen* [4]), dat uit de verschillende kleur der biureetreactie niet de hoeveelheid pepton kon berekend worden, maar toch heeft later *Klug sen.* [5]) er een methode op gebaseerd. Hij neutraliseerde vóór en na de digestie het digestie-mengsel. In het laatste geval kookte hij de vloeistof eerst op. Dan behandelde hij de vloeistof met natronloog en kopersulfaat, filtreerde en deed een deel van het filtraat in de „Trog" van *Schultze*, die hij voor den spektrophoto-meter van *Glan* plaatste.

De aflezing, hierbij verkregen, vergeleek hij met die, wanneer hij de „Trog" gevuld had met water. Aldus bepaalde *Klug* de exstinctiecoëfficient. Deze zou de relative eiwitconcentratie het eenvoudigst uitdrukken. Had hij de E^1 (exst. coeff.) van het maagsap en de E^2 van het verteringsmengsel bepaald, dan zou $E^2—E^1$ een maat zijn voor de hoeveelheid gevormde albumosen en peptonen.

Ook *Klug jun.* [6]) heeft dergelijke bepalingen gedaan, maar hij trachtte nog meer splitsingsproducten afzonderlijk te bepalen.

Kaufmann [7]) gebruikte naast de methode van *Mett* de biureetreactie. Hij zag deze negatief uitvallen, waar ook de methode van *Mett* in den steek liet. Anders was de sterkte van de biureetreactie ± parallel aan de digestie naar *Mett.*

---

1) *Sörensen*: Enzymstudiën. Bioch. Zeitschr. Bd. XXI. 1909. S. 131—305.

2) *Bogdandy*: l. c. 3) *Effront*: l. c. 4) *Johannessen*: l. c.

5) *Klug sen.*: Untersuchungen über Pepsinverdauung. Pflüger's Archiv Bd. 60. 1895. S. 43.

6) *Klug jun.*: Beiträge zur Pepsinverdauung. Pflüger's Archiv Bd. 65. 1897. S. 330.

7) *Kaufmann*: Zur Frage der quant. Pepsinbestimmung nach Mette. Archiv für Verdauungskrankh. Bd. IX. 1903. S. 570.

Arrhenius [1]) heeft het eerst aangetoond, dat het electrisch-geleidingsvermogen van een electrolyt afneemt, door in zijn oplossing te brengen een niet-electrolyt, bv. eiwit. Wanneer albumine in zure oplossing gesplitst wordt in albumosen, dan zal de verbinding van het zuur met de albumosen een ander geleidingsvermogen bezitten, dan het zuur met het albumine had. Het geleidingsvermogen zal afnemen. Hiervan heeft *Sjöqvist* [2]) partij getrokken. Hij bereidde albumineoplossingen, waarvan hij door uitdampen, drogen, verbranden en wegen van de asch het albuminegehalte bepaalde. In fleschjes deed hij bepaalde hoeveelheden albumineoplossing, zoutzuur en verschillende hoeveelheden pepsineoplossing, liet digereeren bij 37° C. Na verschillende tijden bepaalde hij in proefjes bij 18° C. het geleidingsvermogen. In tabellen geeft hij: μ = moleculair-geleidingsvermogen, en $\triangle$ = vermindering van het geleidingsvermogen.

Evenzoo heeft *Oker-Blom* [3]) bepalingen gedaan voor een maagsap-eiwitoplossing. Ook hij zag het electrisch geleidingsvermogen afnemen, hoewel ten slotte minimaal. Hij meent, dat dit veroorzaakt wordt door de binding van het zoutzuur door de splitsingsproducten.

Later zal ik uitvoerig op de onderzoekingen van *Sjöqvist* terugkomen. Daar echter de bepaling van het electrisch geleidingsvermogen voor quant. pepsinebepaling te ingewikkeld is, zal ik hun methodiek niet nader bespreken. Ik wil er alleen op wijzen, dat *Oker-Blom* [4]) ook vriespuntsbepalingen van digestievloeistoffen deed met het toestel van *Beckmann*. Hij vond echter, dat het vriespunt van eiwitoplossingen onder invloed van pepsine zèèr weinig wisselde en dan nog wel soms in positieven, soms in negatieven zin.

Uit deze groep is veelvuldig de methode van *Volhard* [5]) gebruikt voor quantitatieve bepalingen van pepsine, ten minste voor klinisch onderzoek. Vroeger heb ik reeds beschreven de methode van *Thomas en Weber* [6]), waarbij caseineoplossingen gedigereerd werden en waarna, na praecipitatie

---

1) *Arrhenius*: Ueber die Aenderung des elektrischen Leitungsvermögens einer Lösung etc. Zeitschr. für physikalische Chemie. Bd. IX. 1892. S. 493.

2) *Sjöqvist*: l. c.

3) *Oker-Blom*: Thierische Säfte und Gewebe etc. Skand. Archiv für Psysiologie. Bd. XIII. 1902. S. 359.

4) l. c.

5) *Volhard*: Ueber eine neue Methode etc. Münch. Med. Woch. 1903. No. 49. S. 2129. id.: Ueber eine neue Methode etc.: Münch. med. Woch. 1904. S. 158.

6) *Thomas und Weber*: l. c.

van de onverteerde caseine, de laatste door wegen bepaald werd. *Meunier* [1]) had ook proeven met caseineoplossing gedaan. Hij bepaalde aan 't begin der digestie en aan 't einde de „HCl libre" met behulp van het reagens van Töpfer (dimethylamidoazobenzol) en het reagens van Gunzburg (phloroglucine-vanilline), volgens een door hem aangegeven methode. De vermindering yan den „vrijen" zuurgraad, zou volgens *Meunier* [2]) een maat zijn voor de pepsine-digestie, daar des te meer zoutzuur zich zal hechten aan de „albumoïde", naar mate meer pepsine aanwezig is.

Uit deze twee methoden heeft *Volhard* de zijne samengesteld. *Volhard* heeft eveneens een caseineoplossing in zoutzuur gebruikt. Wanneer hij door natriumsulfaat de caseine praecipiteerde en den zuurgraad van het filtraat bepaalde, dan vond hij dat de caseine altijd eenzelfde hoeveelheid zoutzuur had meêgenomen. Liet hij pepsine op de caseineoplossing werken en praecipiteerde hij daarna de onverteerde caseine, dan vond hij de aciditeit van het filtraat toegenomen, des te meer naar mate meer caseine verteerd was.

Hij loste 100 gram caseine op in 1760 cM^3 water en 140 cM^3 $^1/_1$ n. HCl. Hij nam voor elke proef 100 cM^3 caseineoplossing, vulde deze met water en maagsap aan tot 300 cM^3, liet dan verteren bij 40° C. De onverteerde caseine praecipiteerde hij daarna met 100 cM^3 natriumsulfaat, filtreerde en bepaalde van 200 cM^3 filtraat de aciditeit met $^1/_{10}$ n. NaOH en phenolphtaleïne.

Het verschil in zuurgraad van het filtraat van de contrôle-vloeistof en van de digestievloeistof, was de maat voor de digestie.

Volgens *Löhlein*[3]) wilde *Volhard* aanvankelijk alleen het zoutzuur titreeren, waarom hij alizarine als indicator gebruikte. Bij phenolphtaleïne wordt nl. de zuurgraad sterk in de hoogte gebracht door de peptonen. Bij phenolphtaleïne heeft de omslag in het rood eerst dan plaats, wanneer ook alle organische zuren geneutraliseerd zijn. Toch gelooft *Löhlein*, dat dit geen bezwaar is.

Löhlein maakte een alkalische oplossing van caseine, die hij zoowel voor trypsine- als pepsine-bepalingen kon gebruiken. Voor de laatsten deed hij er dan zoutzuur bij. Verder ging hij op de wijze van *Volhard* te werk.

---

1) *Meunier*: Recherche quantitative de la pepsine etc. Comptes rendus des séances de la société de biologie. Année 1901. p. 560.

2) *Meunier*: Du dosage de l' acide chlorhydrique libre dans le suc gastrique. Comptes rendus des séances etc. Année 1901. T. 53. p. 283.

3) *Löhlein*: Ueber die Volhardsche Methode etc. Med. Diss. Giessen 1905.
Id.: in Hofmeister's Beiträge Bd. VII, S. 120.

Küttner[1]) is tegen het gebruik van de caseineoplossing van *Löhlein*[2]), omdat er NaCl bij ontstaat, dat remmend werkt op de pepsine. Daarom neemt hij liever de zoutzuur-caseineoplossing. Hij neemt 100 gram caseine op 400 cM³ water van 50° C, laat dit ½ uur staan op 50° C. Nu vult hij aan tot 1 L. met water, doet er daarna al schuddend zoutzuur bij, nl. 140 cM³ normaal. Ten slotte vult hij aan tot 4 Liter met water van 50° C. Hij neemt voor elke proef 200 cM³ van deze caseineoplossing, vult aan tot 300 cM³ met water en maagsap, laat 1 uur digereeren bij 40° C. Na de digestie brengt hij erbij 100 cM³ 20 % glauberzout, filtreert en bepaalt van 200 cM³ de aciditeit, met phenolphtaleïne als indicator. Hiervan trekt hij af de aciditeit van het maagsap en van het filtraat van de contrôlevloeistof.

Heichelheim en Kramer[3]) schijnen zeer met de methode van Volhard te zijn ingenomen. Zij toch schreven „scheint dieselbe zur Zeit die beste Methode zu sein, wo es darauf ankommt genau quantitativ zu arbeiten." Evenzoo is *Reicher*[4]) zeer met haar ingenomen, vooral tegenover de methode van *Mett*, waarop *Nirenstein* en *Schiff* „eine ebenso gründliche wie fast vernichtende Kritik" zouden hebben uitgebracht. Ten slotte noem ik nog de onderzoekingen van *Wojwodoff*,[5]) *Marie Schapiro*[6]) en *Molnar*,[7]) waarbij de methode is gebruikt, zij het al met kleine wijzigingen, die echter geen bijzondere beteekenis hebben.

Een geheel nieuwe methode is door *Sörensen*[8]) gegeven. Deze berust hierop, dat men de proteolytische splitsing van eiwitstoffen mag opvatten als een hydrolyse, waarbij carboxyl- en amino-groepen vrijkomen. Hij trachtte zoowel de carboxyl-groepen als de amino-groepen te bepalen, maar alleen de bepaling der eerste gaf bevredigende uitkomsten. Hiertoe

---

1) *Küttner*: Ueber die Volhardsche Pepsinbestimmung, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 52. 1907.

2) *Bogdandy* l. c.: beweert, dat door NaOH uit de caseine zouden ontstaan stoffen, die door natriumsulfaat niet meer worden gepraecipiteerd.

3) *Heichelheim en Kramer*: Ueber den Einfluss von Salzsäureeingiessungen auf den Pepsingehalt etc. Münch. Med. Woch. 1904. S. 330.

4) *Reicher*: Ueber neuere Methoden quantitiver Pepsinbestimmung. Wien. klin. Woch. 1907. No. 48. S. 1508.

5) *Wojwodoff*: l. c.

6) *Marie Schapiro*: Ueber die Volhardsche Methode. Med. Diss. Bern. 1908.

7) *Molnar*: Ueber die Frage des Uebertrittes etc. Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 67. 1909. S. 188.

8) *Sörensen*: Etudes Enzymatiques. Comptes-rendus des travaux du Laboratoire de Carlsberg. 7me Volume. 1re Livraison. 1907.

Id.: Enzymstudiën: Biochem. Zeitschr. Bd. VII. S. 45.

voegde hij formol toe, waardoor de amino-groepen gemethyleneerd worden, aldus:

$$R\,CH\begin{cases}COOH\\NH_2\end{cases} + HCOH = R\,CH\begin{cases}COOH\\N=CH_2\end{cases} + H_2O.$$

Daarna bepaalde hij de carboxylgroepen langs titrimetrischen weg vòòr en na de digestie.

Hij titreerde met $^1/_5$ n. barytoplossing en gebruikte als indicator of thymolphtaleïne of phenolphtaleïne.

Ik zal echter zijn methode niet verder bespreken, daar *Sörensen* zelf in een latere publicatie [1]) schreef „dasz eben bei der Pepsinspaltung verhältnismässig wenig Peptidbindungen gelöst werden, infolge dessen der Umfang der Proteolyse, durch Formoltitrierung gemessen, sich als nur sehr geringfügig erweist."

Groep IV

Had men bij de meeste methoden vòòr de publicatie van *Mett* [2]) klompjes eiwit laten verteren, die over hunne geheele oppervlakte met de digestievloeistoffen in aanraking waren, waardoor dus bij voortschrijdende digestie het aangrijpingsoppervlak voortdurend afnam, daar is het juist van de methode van *Mett* de groote beteekenis, dat het aangrijpingsoppervlak voor de pepsine steeds vrijwel constant blijft.

Zeker is de methode van *Mett* het meest gebruikt voor klinisch onderzoek van maagsappen. In 1889 heeft *Mett* zijn methode gepubliceerd in het Russich, in 1894 in het Duitsch [2b]).

Door de belangrijke onderzoekingen van *Pawlow* [3]) en het onderzoek van *Linossier* [4]) over de methode van *Mett* voor maagsappen is zij echter pas algemeen bekend geworden bij de klinici. Bovendien heeft *Borissow* [5]), althans voor zuiver maagsap, de naar hem genoemde wet met die methode ontdekt, waardoor men in staat werd gesteld zijn uitkomsten in getallen uit te drukken, en zoodoende te vergelijken met de uitkomsten van anderen.

---

1) *Sörensen*: l. c. in Bioch. Zeitschr. Bd. XXI. S. 289.

2) *Mett*: Zur Innervation der Bauchspeicheldrüse. Inaug. Diss. St. Petersburg. 1889. (russisch). Gecit. n. Pawlow: die Arbeit der Verdauungsdrüsen. S. 31.

Id.: Beiträge zur Physiologie der Absonderungen: Archiv fur Anatomie und Physiologie. Physiol. Abtheilung: 1894. S. 58.

3) *Pawlow*: die Arbeit der Verdauungsdrüsen. Wiesbaden 1898. S. 31. 32.

4) *Linossier*: Recherche et dosage de la pepsine dans le contenu gastrique des dyspeptiques. Journal de Physiologie et Pathologie générale. Tome premier. 1899. p. 281.

5) *Borissow*: gecit. naar Pawlow. S. 32.

Zoo schreef *Pawlow* [1]: „Ich musz hier mein Bedauern darüber ausdrücken, dasz die Mettsche Methode, die schon im Jahre 1889 vorgeschlagen wurde, bis jetzt noch nicht die weite Verbreitung erworben hat, die sie gerechter Weise verdient. Wie leicht könnte sie zur Universalmethode der Bestimmung eiweissverdauender Fermente werden, so dass alle Untersuchungen dieser Fermente mit einander vergleichbar würden. Niemand wird leugnen, dass dieses in hohem Grade wünschenswert ist. Dann würden alle Beobachtungen an Säften verschiedener Tiere und Menschen eine einheitliche Skala darstellen, die zu wichtigen Schlussfolgerungen über die Schwankungen des Fermentgehalts bei Individuum, Spezies und Genus führen könnte."

Mett vulde glazen buisjes, met een inwendige middellijn van 1 à 2 mM met vloeibaar, versch kippeneiwit.

Daarna bracht hij deze in water van 95° gedurende 1 minuut, liet ze langzaam afkoelen en sneed er stukjes van ter lengte van 1 cM.

Met behulp van een millimeterschaal bepaalde *Mett* de lengte van de vertering. Hij zag geen verschil in vertering, of men 1 cM^3 of 4 cM^3 digestievloeistof gebruikte.

Pawlow en zijn leerlingen werkten met zuiver maagsap van den hond.

Linossier [2]) experimenteerde het eerst met menschelijk maagsap. Hij nam voor elke proef 5 cM^3 maagsap, deed hierbij 50 cM^3 0.2 % zoutzuur, alkali, zooveel als noodig was om het maagsap te neutraliseeren en vulde ten slotte aan tot 60 cM^3 met 0.2 % HCl. Hij verdunde dus het maagsap 5 op 60, d. i. 12-voudig.

Later hebben *Nirenstein en Schiff* [3]) een wijziging van de methode voorgesteld voor maagsaponderzoek, nl. om altijd 16-voudig te verdunnen, om remmende producten nl. keukenzout, koolhydraten enz. uit te schakelen. Zij hadden bij zwakke verdunningen menigmaal afwijkingen gezien van de wet van *Borrisow*.

Van veel beteekenis was deze wijziging niet, daar toch *Linossier* het maagsap wel niet 16, maar toch 12 maal verdunde, misschien ook wel om die remmende werking te ontgaan. Dit laatste vermeldt hij echter niet uitdrukkelijk in zijn mededeeling.

Zeker is het onjuist, zooals menigmaal in de litteratuur geschiedt, het voor te stellen, alsof de modificatie van *Nirenstein* en *Schiff* het eigenlijke

---

1) *Pawlow*: l. c. S. 33.

2) l. c.

3) *Nirenstein und Schiff:* Ueber die Pepsinbestimmung nach Mett und die Nothwendigkeit ihrer Modification für klinische Zwecke. Archiv für Verdauungskrankh. Bd. VIII. 1902. s. 559 en Berl. klin. Wochenschr. 1903. s. 269.

van de methode van *Mett* zou zijn. Mij dunkt, we zouden met meer recht kunnen spreken van de wijziging naar *Linossier*. Natuurlijk volgt weer ieder onderzoeker zijn eigen methode om buisjes van *Mett* te maken of om de verteerde lengten te meten.

Zoo verhitten *Nirenstein en Schiff*[1]) de buisjes, om het eiwit te doen stollen, op 95° C. gedurende 10 minuten, *Meyer*[2]) op 100° C. gedurende 5 minuten, *Meier*[3]) op 70° C. *Belgowski*[4]) overgiet de buisjes *3* maal met kokend water, *Lewin*[5]) brengt de buisjes gedurende 5—10 min. in water van 100° C. en laat ze in het langzaam afkoelende water tot den volgenden dag.

Verder is het van het grootste belang, de buisjes te vullen met eiwit, zonder dat er luchtbelletjes in zitten. Hiertoe hebben *Heichelheim en Kramer*[6]) de buisjes gereinigd met water, alkohol en aether, terwijl ze het eiwit zooveel mogelijk bevrijden van lucht, door het eiwit eenigen tijd onder de luchtpomp te laten staan. Voor hetzelfde doel liet *Grützner*[7]) het eiwit eenige uren staan bij 40° C. *Linossier*[8]), *Schorlemmer*[9]) en *Meier*[10]) lieten min of meer gecompliceerde meetapparaten maken. Alle onderzoekers laten de buisjes liggend in de digestie-vloeistof digereeren, alleen *Rzentkowski*[11]) laat ze vertikaal verteren.

In de tabellen wordt meestal de verteerde lengte van één buisje van *Mett* weergegeven, als gemiddelde van meerdere.

Zeker is het een nadeel van de methode van *Mett*, dat o.a. door verschillende samenstelling van het eiwit de vertering van buisjes van *Mett* soms gemakkelijker, soms moeilijker plaats vindt. Het verschil zou, zoo meent *Kaufmann*,[12]) wel 56 % kunnen bedragen. Daarom is de studie

---

1) l. c.

2) *A. H. Meyer:* Zur Kenntnis der Magensekretion. Archiv für Kinderheilkunde. Bd. 35. 1903. S. 79.

3) *H. Meier:* Ueber eine Verbesserung etc. Berl. klin. Woch. Bd. 43. 1906. S. 347.

4) *Belgowski*: Ein Beitrag zur Lehre etc. Pflüger's Archiv Bd. 148. 1912. S. 330.

5) *Lewin:* Ueber den Nachweis und die diagnostische Bedeutung des Pepsins etc. Inaug. Dissertation. Leipzig. 1902. s. 33.

6) *Heichelheim u. Kramer:* l. c. s. 330.

7) *Grützner:* Ein Beitrag zum Mechanismus der Magenverdauung. *Pflüger's* Archiv. Bd. 106. 1905. S. 478.

8) *Linossier:* l. c.

9) *Schorlemmer:* l. c.

10) *Meier:* l. c.

11) *Rzentkowski:* Studieën über die proteolytische Kraft etc. Arch. für Verdauungskrankh. Bd. IX 1903. S. 348.

12) *Kaufmann:* Zur Frage der quant. Pepsinbestimmung nach Mett. Archiv für Verdauungskrankh. Bd. IX. 1903. S. 562.

van *J. Christiansen*[1]) zeer belangrijk, daar zij aangegeven heeft, op welke wijze men die fouten tot een minimum kan beperken. Haar methode komt hierop neer, dat men voor het maken van een serie buisjes van *Mett* het eiwit bij bepaalde temperatuur laat stollen, waardoor het eiwit even snel gedigereerd wordt als van de buisjes eener vorige reeks. Zij vult hiertoe 11 buisjes met eiwit, laat deze coaguleeren bij resp. 90°, 89, 88 etc. tot 80° C. Nu bepaalt ze in proeven, welke van deze buisjes even snel verteerd worden als de buisjes van de vorige reeks, die bij 85° C. tot stolling waren gebracht. Stel, dat ze vond, de buisjes die bij 88° C. gecoaguleerd waren, dan verwerkt zij de rest van het eiwit in buisjes bij 88° C. en controleert nogmaals of het ijken gelukt is. De middellijn der buisjes mag wisselen, volgens *Christiansen*, van 0.9 tot 1.5 mM zonder merkbare afwijking. Wordt de middellijn kleiner, dan wordt de vertering ook geringer, zooals o. a. ook *Jung*[2]) vond.

Enkele onderzoekers vulden buisjes van *Mett* met paardenserum. o. a. *Glaessner*[3]), *Dauwe*[4]), *M. A. van Herwerden.*[5])

Pawlow en Parastschuk[6]) gebruikten serum-albumine.

De buisjes, gevuld met serum, zouden sneller gedigereerd worden dan die met gestold kippeneiwit. Hierdoor zouden derhalve de buisjes ook kleine hoeveelheden pepsine kunnen aantoonen.

---

1) *J. Christiansen:* Einige Bemerkungen über die Mettsche Methode. Bioch. Zeitschr. Bd. 46. S. 257.

2) *Jung:* Pepsinbestimmungen nach modernen Methoden etc. Arch. für Verdauungskrankh. Bd. VIII. 1902. S. 605.

3) *Glaessner:* Ueber die Vorstufen etc.: Hofmeisters Beiträge Bd. I. 1902. S. I.

4) *Dauwe:* Ueber die Absorption etc.: Hofmeisters Beiträge Bd. VI. 1905. S. 426.

5) *M. A. van Herwerden:* Zuurafscheiding en Enzymwerking in de maag van visschen. Onderzoekingen. Physiol. laboratorium Utrecht. Ve Reeks. IX. p. 36.

6) *Pawlow u. Parastschuk:* Ueber die ein- und demselben etc. Zeitsch. für physiol. Chemie Bd. 42. 1904. S. 415.

HOOFDSTUK II

PEPSINE-REGELS

De in het voorafgaande beschreven methoden hebben allen ten doel, een maat te vinden voor het verterend vermogen van een oplossing van pepsine, in verhouding tot het gehalte der oplossing aan enzym. Dat telkens nieuwe methoden gezocht en reeds toegepaste gewijzigd werden, wijst op de moeilijkheid van het vraagstuk. Het is dan ook niet te verwonderen, dat door verschillende onderzoekers uiteenloopende uitkomsten werden verkregen, te minder als men in aanmerking neemt, dat verschillende eiwitstoffen — gestold of ongestold kippen- of serumeiwit, caseine, edestine — voor de reactie worden gebruikt. Daarbij komt nog dat door sommigen het vermogen van pepsine om eiwit op te lossen, door anderen daarentegen het vermogen om dit te splitsen, te „peptoniseeren" werd nagegaan.

Het laatste werd weer op verschillende manieren bepaald. Zoo werd of één splitsingsproduct bepaald of verscheidene. Soms werd de vertering gemeten naar de verandering eener physische eigenschap van de digestievloeistof, die het gevolg is van het uiteenvallen van het eiwitmolecuul in zijn verschillende onderdeelen, terwijl niet bekend is, op welke wijze de splitsingsproducten ieder voor zich op zulk een physische eigenschap invloed hebben.

In principe van alle methoden verschillend is de methode van *Mett.* Hier immers werkt de pepsine op een zelfde oppervlakte van eiwit, terwijl bij alle andere methoden, behalve misschien bij die van *Kohlenberger*, de oppervlakte van het onverteerde eiwit voortdurend afneemt.

We hebben dan ook in de verschillende methodiek de voornaamste oorzaak te zoeken, dat door de onderzoekers zoo verschillende pepsineregels zijn opgesteld.

De verwarring is echter nog grooter geworden, doordat met eenzelfde methode dikwijls zoowel de eene als de andere regel is opgesteld.

Weer anderen zijn tot de overtuiging gekomen, dat van een eigenlijke pepsineregel of wet geen sprake kan zijn.

Om de werking van pepsine te bestudeeren heeft *Grützner*[1]) in een artikel „Ueber Fermentgesetze" drie methoden aangegeven:

1) *Grützner*: Ueber Fermentgesetze. Pflüger's Archiv Bd. 141. 1911. S. 63.

I°. Men kan de tijden bepalen, waarin verschillende oplossingen van het enzym, onder dezelfde omstandigheden natuurlijk, eenzelfde hoeveelheid eiwit omzetten. Daar *Brücke* het eerst proeven naar dit beginsel heeft genomen, noemt *Grützner* dergelijke proeven „Endversuche oder Brücke'sche Versuche."

II°. Na een bepaalden tijd wordt de hoeveelheid eiwit bepaald, die door een zekere hoeveelheid enzym is gesplitst of verteerd. De proeven op dit principe gebaseerd, noemt hij de „abgebrochene oder Schwann'sche Versuche."

III°. Men bepaalt de omzetting van de eiwitstoffen door een bepaalde hoeveelheid pepsine op verschillende tijdstippen van de digestie: de „Fortschritt's oder Wilhelmy'sche Versuche." Deze methode toch heeft *Wilhelmy* het eerst gevolgd bij zijn studie over de splitsing van rietsuiker onder invloed van zuren in rechts- en linksdraaiende suiker.

Onder groep II valt de o.a. door *Michaëlis* [1]) genoemde methode, waarbij de kleinste hoeveelheid eener oplossing van pepsine of van een maagsap bepaald wordt, die in denzelfden tijd eenzelfde hoeveelheid eiwit verteert of oplost als een oplossing van het enzym van bekende concentratie, een zgn. „Testlösung."

Verschillende schrijvers o.a. *Duclaux*, [2]) *Bredig*, [3]) *Hedin*, [4]) hebben erop gewezen, dat men alleen bij de „Brücke'sche Versuche" een eenvoudige verhouding zal mogen verwachten tusschen de hoeveelheid pepsine en den tijd, gedurende welken het enzym heeft gewerkt op het eiwit. Immers men laat bij deze proeven de verschillende hoeveelheden enzym eenzelfden chemischen arbeid verrichten, terwijl bij de andere deze arbeid meestal afwisselt. Wil men toch in het laatste geval den gang der digestie in een formule uitdrukken, dan zal deze dus zeer ingewikkeld worden, daar allerlei factoren en ten deele zelfs onbekende, in het spel zijn. (binding v. h. enzym door splitsingsproducten etc.).

Wanneer we de onderzoekingen over de pepsinedigestie nagaan, dan zien we, dat de volgende regels zijn opgesteld:

1°. *de regel van Brücke* aldus geformuleerd: de hoeveelheid pepsine is omgekeerd evenredig aan den tijd, noodig om een gegeven hoeveelheid eiwit te splitsen of op te lossen;

---

1) *Michaëlis*: Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden von E. Abderhalden. Theil III.

2) *Duclaux*: Traité de microbiologie. t. II. gecit. naar *Effront*: l. c.

3) *Bredig*: die Elemente der chemischen Kinetik: Ergebnisse der Physiologie. Jahrg. I. Abtheilung I. 1902. S. 159.

4) *Hedin*: Zur Kinetik der Enzyme. Zeitschr. für physiol. Chemie. Bd. 57. 1908. S. 468

2°. *de regel van Schütz:* de vertering is evenredig aan den wortel uit de pepsineconcentratie. Een groot verschil van meening bestaat, zooals we in het volgende zullen zien, over de verhouding tusschen vertering en tijd, gedurende welken gedigereerd wordt. Sommige onderzoekers meenen, dat tusschen beide evenredigheid bestaat, andere dat ook hier de wortelverhouding zou opgaan. Daar *Schütz* en *Huppert* het eerst voor het laatste gepleit hebben wordt de regel uitgedrukt door $v = \sqrt{p.t}$, wel genoemd die van *Schütz—Huppert.* Spreken we derhalve van den regel van *Schütz* zonder meer, dan bedoelen we alleen de wortelverhouding tusschen vertering en pepsineconcentratie.

3°. *de regel van Borissow:* de vertering is evenredig aan den wortel uit de pepsineconcentratie, maar direct evenredig aan den tijd;

4°. *de regel van directe evenredigheid:* de vertering is evenredig aan de hoeveelheid pepsine.

Ik heb de regels van *Schütz* en *Borissow* gescheiden, hoewel menigmaal in de litteratuur van den regel van *Schütz—Borissow* gesproken wordt, om verwarring van den regel van *Borissow* met dien van *Schütz—Huppert* te ontgaan.

In het volgende zullen we achtereenvolgens deze vier regels bespreken.

Ten slotte zullen we de proeven van enkele onderzoekers bespreken, die òf een andere regelmaat meenden te ontdekken, òf meenden dat van een eigenlijke pepsineregel geen sprake is.

I Regel van Brücke

Reeds *Schwann* [1]) deed proeven, waarbij hij de tijden vergeleek, noodig om een bepaalde hoeveelheid eiwit, hij gebruikte eiwitlamellen, te laten verteren door extrakten van rundermaagslijmvliezen van verschillende concentratie.

Nauwkeuriger waren de proeven van *Brücke* [2]) ingericht. Bij de bespreking der methoden heb ik reeds de inrichting zijner proeven vermeld. Nu zal ik eenige zijner resultaten mededeelen.

In een reeks reageerbuisjes bracht hij evenveel fibrine en evenveel oplossing van pepsine. Deze had een zuurgraad van 0.1 % en door verdunnen met zoutzuur van 0.1 % maakte hij de concentratie van de pepsine verschillend in de reageerbuisjes. Hij noteerde den tijd, waarin de fibrinevlokken waren opgelost, aldus:

---

1) *Schwann:* l.c. s. 100.

2) *Brücke:* l.c.

Reageerbuisje:	Gehalte aan pepsine:	Fibrine verteerd na
1.	0	—
2.	*x.*	20 uur.
3.	2 *x.*	20 "
4.	4 *x.*	7 "
5.	8 *x.*	3½ "
6.	16 *x.*	3 "
7.	32 *x.*	1½ "

We zien in deze proef, dat voor de vloeistoffen van buisje 7 en 6, resp. 5 en 4 ± de regel van *Brücke* opgaat, maar meer dan een aanduiding is het zeker niet. *Brücke* heeft dan ook nergens in zijn proeven den regel, die naar hem genoemd is, willen aantoonen. Dat bij de inrichting van zijn proeven ook niet een groote nauwkeurigheid bestaat, volgt het duidelijkst uit den raad van *Brücke* zelf, om de oplossingen van pepsine zóó sterk te verdunnen, dat de fibrine niet in minder dan 30 minuten verteerd wordt, daar anders het verschil in digereerend vermogen tusschen de verschillende oplossingen zóó gering wordt, „dass man die Fibrinflocken kaum gleichmässig genug aussuchen kann, um ihn deutlich genug hervortreten zu lassen."

Hij gaf deze proef alleen weer, om aan te toonen, dat de snelheid van vertering afhankelijk is van de hoeveelheid pepsine, zonder meer.

Om de relatieve concentratie van twee oplossingen van pepsine te bepalen, ging *Brücke* op andere wijze te werk, waarop we later zullen terugkomen.

Later hebben *Schütz en Huppert*[1]) nog eens de methode van *Brücke* gekritiseerd. Zij hebben vooreerst erop gewezen, dat bij haar de snelheid, waarmede het eiwit opgelost wordt, gelijkgesteld wordt aan de snelheid, waarmede het verteerd wordt; dat verder de fibrinevlokken even groot en even dicht moeten zijn, en eenzelfde oppervlak aan de werking van de pepsine moeten aanbieden; tenslotte dat tijdens de digestie deze oppervlakte steeds kleiner wordt.

Het is echter duidelijk, dat het eerste en het tweede bezwaar bijna allen methoden aankleeft.

Mayer[2]) zag in zijn proeven, dat „die Zeit die zur Verdauung nöthig, in einem umgekehrten Verhältnisse steht zur Menge des verwendeten Pepsins", maar „Von einer genauen umgekehrten Proportionalität, kann hier nicht die Rede sein, weil es sich um das Löslichmachen eines festen Körpers handelt und hierfür nur beschränkte Angriffspunkte zu Gebote

1) *Schütz en Huppert*: l.c.
2) *A. Mayer*: l.c. s. 353.

stehen, so dass eine Ueberzahl der Angreifenden nicht zur wirksamen Thätigkeit gelangen kann".

Boas [1]) daarentegen ging uit van de geldigheid van den regel van *Brücke.* Hij gaf den raad om maagsappen te onderzoeken met behulp van een standaardoplossing van een maagsap. Het laatste was het maagsap van een normaal persoon. Verteert het te onderzoeken maagsap een „Eiweissprobe" in 1 uur, terwijl het standaard-maagsap hiervoor 2, 3 of 4 uur noodig heeft, dan is het eerste 2, 3 of 4 maal sterker dan het laatste. Hij zegt „das ist für praktische Zwecke zu wissen ausreichend".

Ik behoef zeker niet nader uit te werken, dat deze methode tot absoluut foutieve uitkomsten moet leiden.

Om zooveel mogelijk al de pepsine met het eiwit in aanraking te brengen, deed *Sjöqvist* [2]) zijn proeven met poedervormig eiwit in fleschjes, die tijdens de digestie geroteerd werden; dan mag worden aangenomen dat, „die Digestion in einem so viel als möglich homogenen Aequilibrium statt gefunden hat."

Na verschillende tijden bepaalde hij, op de vroeger beschreven wijze, van telkens 5 cM^3 het N-gehalte. In de tabel geeft hij het aantal cM^3 $^1/_{10}$ n. H_2SO_4 op, dat bij titratie noodig was:

Tabel

Pepsineconcentratie.	na 2 uur.	4 u.	6 u.	8 u.	14 u.	20 u.	31 u.	48 u.
0.5	3.16	4.05	4.62	5.08	6.50	7.60	8.83	10.38
1.0	4.12	5.16	6.01	—	8.18	9.06	9.99	10.47
2.0	5.28	6.77	—	8.28	9.86	—	—	10.42
4.0	7.00	8.37	9.19	9.69	—	10.38	10.43	—

Met behulp van deze getallen construeerde hij krommen en berekende uit deze de digestie in de tijden, die lagen tusschen 2 uur en 4 uur etc. Aldus de volgende

Tabel

Pepsineconcentratie.	na 1 uur.	3 u.	5 u.	7 u.	10 u.	12 u.	16 u.
0.5	2.25	3.65	4.40	5.00	5.67	6.10	6.90
1.0	3.20	4.75	5.67	6.42	7.25	7.75	8.55
2.0	4.00	6.10	7.25	8.05	8.95	9.95	—
4.0	5.65	7.80	8.85	9.50	—	—	—

1) *Boas*: l.c. s. 187.
2) *Sjöqvist*: l.c. s. 355.

Hij meent, dat deze proef den regel van *Brücke* bevestigt.

Immers:

4.0	verteert	in 2 uur:	7.00.
2.0	„	in 4 uur:	6.77.
1.0	„	in 8 uur:	± 7.00.
0.5	„	in 16 uur:	6.90.

Is toch het product van pepsineconcentratie en tijd van vertering gelijk, dan is de vertering hierbij behoorend dezelfde.

Sjöqvist meende uit zijn krommen te mogen besluiten, dat het digestieproces uit twee phasen bestaat. In het begin zou de vertering veel sneller verloopen dan later. Voor het tweede gedeelte heeft hij een formule opgesteld, waarop we later nog terug zullen komen.

Spriggs [1]) liet 3 verschillende oplossingen van pepsine, waarvan de concentraties zich verhielden als 1 : 2 : 4 op dezelfde oplossingen van eiwit werken, zóó lang tot de drie digestievloeistoffen denzelfden doorstroomingstijd van 83 secunden gaven met den viscosimeter. Hij vond als quadraten van den tijd van digestie, resp. 42.2; 24.0 en 10.9. De tijden verhielden zich dus ± als V 4 : V 2 : 1, terwijl men naar den regel van *Brücke* zou verwacht hebben als 4 : 2 : 1.

Bettmann en Schroeder [2]) vonden met hun schuimmethode, dat $t \times \sqrt{p} =$ constant was, waarbij t = de tijd is, waarin het schuim is verdwenen, bv. in de volgende

Proef

Pepsineconsentratie:	1 :	in 8 min. :	dus	$t \times \sqrt{p} =$	$8 \times 1 = 8.$
„	$^1/_2$:	„ 12 „ :	„		$= 12 \sqrt{^1/_2} = 8.4$
„	$^1/_4$:	„ 16 „ :	„		$= 16 \sqrt{^1/_4} = 8.0$
„	$^1/_{16}$:	„ 33 „ :	„		$= 33 \sqrt{^1/_{16}} = 8.25$
„	$^1/_{32}$:	„ 42 „ :	„		$= 42 \sqrt{^1/_{32}} = 7.35$
„	$^1/_{64}$:	„ 60 „ :	„		$= 60 \sqrt{^1/_{64}} = 7.50$

Daarentegen kon *Hata* [3]) met zijn suspensie-methode den regel van *Brücke* bevestigen. Hij merkt echter op: „das Verhalten der Zeit und der Pepsinmenge ist bei meiner Methode recht einfach. Genau so wie bei der Mettschen Methode stehen die Zeit und die Fermentmenge ungefähr umgekehrt proportional zu ein ander, wie es nicht anders zu erwarten ist, weil in den beiden Methoden ein koaguliertes Eiweisz als Reagens

1) *Spriggs*: l. c.
2) *Bettman en Schroeder*: l. c. S. 599.
3) *Hata*: l. c. im Biochem.-Zeitschr. Bd. 23. S. 183 en 184.

gebraucht wird". We weten echter, dat bij de methode van Mett de regel van Borissow geldig is en dat de proefinrichting van beide methoden absoluut verschillend is, zoodat zulk een overeenkomst, als Hata meent dat bestaat, ons ten zeerste zou moeten bevreemden.

Volgens *Arrhenius* [1]) zijn in het Deensche seruminsituut vele proeven genomen, waarbij verschillende hoeveelheden pepsine (q) in reageerbuisjes werden gebracht met 2 cM^3 7% thymolgelatineoplossing, 1 cM^3 0.4% HCl en 1cM^3 1% NaCl oplossing gedurende verschilllende tijden (t) bij een temperatuur van 36.6° C. Daarna werden ze in een ijskast bewaard tot den volgenden dag en nu werd gekeken, welke kleinste hoeveelheid pepsine in staat was geweest de gelatine vloeibaar te houden. De uitkomsten zijn in de volgende tabel gerangschikt:

Tabel

t (in uren).	q	$q \,.\, t.$
1.33	0.60	0.80
2.0	0.47	0.94
3.0	0.30	0.90
4.0	0.26	1.04
6.0	0.18	1.08
8.0	0.13	1.04
10.0	0.095	0.95
12.0	0.08	0.96
14.0	0.07	0.98
20.0	0.045	0.90
24.0	0.038	0.91

Gemiddeld $q \,.\, t = 0.96$.

Ook in dit geval zien we dus den regel van *Brücke* opgaan.

Hedin [2]) heeft getracht den regel van Brücke theoretisch af te leiden. Daar we de verhouding tusschen reactiesnelheid en concentratie van het substraat niet kennen, heeft Hedin de reactiesnelheid $= \frac{d\,C}{d\,t}$ gesteld, als een onbekende functie van de concentratie: nl. $- \frac{d\,C}{d\,t} = k\,f\,(C)$, waarin dan k de snelheidscoefficient is, afhankelijk van de hoeveelheid enzym.

Hij integreerde tusschen de tijden o en t, waarbij de concentraties C en C^1 behooren. Dan zou volgens Hedin $\varphi\,(C) - \varphi\,(C^1) = k \,.\, t.$

1) *Arrhenius:* Immunochemie. Leipzig 1907, S. 46.

2) *Hedin:* l. c. S. 468.

Is bij een andere hoeveelheid enzym de splitsing van het substraat dezelfde, dan zou worden $-\frac{d\,C}{d\,t} = k^1\,f.\,(C).$, waarin alleen de k een andere is.

Integreerde *Hedin* weer tusschen de tijden o en t' en de concentraties C en C', dan:

$$\varphi\,(C) - \varphi\,(C') = k'\,t'.$$

Worden nu de tijden t en t' zoodanig gekozen, dat de omzettingen en dus de daarbij behoorende concentraties gelijk zijn, dan wordt:

$$k\,.\,t = k'\,.\,t' \text{ of } \frac{k}{k'} = \frac{t'}{t}.$$

Zal deze verhouding werkelijk bestaan, dan moeten volgens *Hedin*, eventueel storende invloeden of nevenreacties bij verschillende hoeveelheden pepsine op dezelfde wijze op het beloop van de reactie hun invloed oefenen. Dit laatste zou men als bewezen mogen aannemen, wanneer uit het onderzoek blijkt, dat de tijden t en t', waarmede overeenkomen de hoeveelheden pepsine p en p' en waarbij dezelfde chemische omzetting heeft plaats gehad, op verschillende oogenblikken der reactie met elkander een constante verhouding vertoonen.

II Regel van Schütz

In 1885 heeft *E. Schütz* [1]) gevonden, dat de vertering evenredig was aan den wortel van de pepsineconcentratie. Hij zag echter, dat boven een draaiing van het polarisatievlak van 100 minuten in zijn proeven de regel niet meer opging. Hij nam aan als eenheid van pepsine die hoeveelheid, die onder de bepaalde voorwaarden 1 gram pepton kon vormen. Het laatste bepaalde hij door de gevonden draaiing van het polarisatievlak te deelen door 4 × 39.18.

Is P = aantal pepsine-eenheden in 1 cM³ maagsap,
p = cM³ van de gebruikte hoeveelheid maagsap,
m = rotatie van het polarisatievlak in minuten,
dan zou zijn:

$$P = \frac{1}{p}\left(\frac{m}{4 \times 39.18}\right)^2.$$

Wordt bv. in een proef met 0.25 cM³ maagsap gevonden een rotatie van 75′ dan is

$$P = \frac{1}{0.25}\left(\frac{75}{156.7}\right)^2 = 4 \times 0.229 = \mathbf{0.916.}$$

1) *E. Schütz:* l. c.

Daar ten tijde van de onderzoekingen van *E. Schütz* nog niet bekend was, dat bij de pepsinedigestie een aantal producten worden gevormd, waarvan de invloed op de draaiing van het polarisatievlak onbekend is, heeft *J. Schütz*[1]) het noodig geoordeeld den regel van *Schütz* te controleeren door proeven, waarin hij eiwitoplossingen liet digereeren en de niet-stolbare stikstof bepaalde naar *Kjeldahl.* Misschien toch was de regel van *Schütz* het gevolg van het ontstaan van zwakker optisch-actieve stoffen.

Hij vond inderdaad, dat ook in zijn proeven de regel van *Schütz* opging, maar nu zoolang, totdat bijna de helft van de stolbare-stikstof was verteerd. De beperkte geldigheid van den regel verklaart hij ten deele uit het afnemen van de hoeveelheid eiwit, ten deele uit de verzadiging van de digestievloeistof met splitsingsproducten.

Volgens hem zou bij de methode van *Mett* het eerste bezwaar niet bestaan, maar wel het laatste. Bovendien zou hier de bemoeilijkte diffusie zich laten gelden.

E. Schütz en Huppert[2]) hebben het eerst verschillende splitsingsproducten bepaald en ook nagegaan, onder meer, den invloed van den tijd op de digestie. Zij bepaalden de hoeveelheid acidalbumine, primaire en secundaire albumosen.

Zij vonden 1° *wat den tijd betreft:* dat voortdurend de som van acidalbumine en primaire albumosen constant bleef, terwijl de hoeveelheid der acidalbumine steeds afnam en die der primaire albumosen toenam. De laatste was evenredig aan den wortel van den tijd, gedurende welken gedigereerd werd. Hetzelfde vonden ze voor de secundaire albumosen tot een 16-urige digestie b.v.:

Tabel

Uren	1	4	9	16	25
Gevonden sec. albumosen .	0.2206	0.5583	0.6887	0.9594	0.9456
Berekend id. .	0.2427	0.4854	0.7281	0.9708	—

2°. *Wat de verhouding met de hoeveelheid pepsine* betreft, constateerden zij: dat weer de hoeveelheid acidalbumine afnam, terwijl die van de primaire albumosen toenam, b.v.:

Tabel

Verhouding v. Pepsineconcentratie	0	1	4	9	16
Acidalbumine	0.3816	0.3410	0.2269	0.1117	0.0442
Primaire albumosen	0.0	0.0204	0.0771	0.1015	0.0906
Som	0.3816	0.3614	0.3040	0.2132	0.1348

1) *J. Schütz:* l. c.

2) *E. Schütz en Huppert:* l.c.

De hoeveelheid secundaire albumosen verhield zich als de wortel uit de pepsineconcentratie, b.v.:

Tabel

Pepsine . . .	1	4	9	16	25	36	49	64
Gevonden . .	9.40	20.61	32.33	45.35	55.2	64.96	75.97	85.25
Berekend . . .	10.8	21.6	32.4	43.2	54.1	64.9	75.7	86.50

Enkele proeven, waarin zij veel pepsine en weinig zoutzuur hadden genomen, hadden een van de vorige afwijkend beloop. Vooreerst ontstond weinig of geen acidalbumine. Zij meenen, dat dit wel werd gevormd, maar terstond onder deze proefvoorwaarden verder zou worden gesplitst. Zij zagen verder, dat de hoeveelheid secundaire albumosen wel toenam, maar niet volgens de wortelverhouding. Daarom meenen zij, dat deze gebonden is aan het bestaan van een voorraad van acidalbumine.

Zij meenden in de digestie twee phasen te kunnen onderscheiden:

1°. phase: de albumine wordt omgezet in acidalbumine door het zuur.

2°. phase: de acidalbumine wordt door de pepsine omgezet in albumosen.

Voor een matig-snelverloopende reactie en bij een zuurgraad onder 0.2 % zou het ontstaan der secundaire albumosen door de volgende formule kunnen worden weergegeven:

$S = k.\ A\sqrt{p.t.s.}$ waarin:

S = hoeveelheid sec. albumosen.

A = „ albumine.

p = „ pepsine.

t = tijd van de digestie.

s = zuurconcentratie.

k = snelheidsconstante.

Door het voortdurend afnemen van de hoeveelheid substraat zou de hoeveelheid secundaire albumosen niet direct evenredig zijn aan die van de pepsine. Was de hoeveelheid substraat constant te houden, dan zou men directe evenredigheid mogen verwachten.

Om dit te bevestigen nam *Huppert* nog twee proeven, waarbij in het eene geval acidalbumine in oplossing, in het tweede in den vorm „eines dünnen Kleisters" werd gebruikt.

Proef A (acidalbumine in oplossing)

Pepsine:		1.	2.	3.	4.	5.
Sec. albumosen	gevonden:	17.25	23.25	27.15	30.15	32.70
	berekend: (naar Schütz)	15.75	22.02	26.97	31.14	34.84

Proef B (als „Kleister")

Pepsine:		1.	2.	3.	4.	5.
Sec. albumosen	gevonden:	8.76	15.61	21.93	31.11	36.5
	berekend: (dir. evenr.)	7.59	15.19	22.78	30.97	37.97

Ook met de methode van *Grützner* hebben eenige onderzoekers den regel van *Schütz* willen bevestigen.

Zoo bracht *Korn* [1]) in een reeks reageerbuisjes achtereenvolgens 0.05; 0.1; 0.2; 0.45 cM³ van een extrakt van een varkensmaagslijmvlies en 9.95; 9.90; 9.80; 9.55 en 10.0 cM³ 0.1 % HCl en tenslotte evenveel gezwollen karmijnfibrine.

Om de vijf minuten schudde hij de vloeistoffen en bepaalde de kleur met behulp van de bekende kleurschaal, (de cijfers I etc. geven de nummers van de standaardbuisjes aan, waarvan de kleur dezelfde is, als van het buisje met de digestievloeistof).

Tabel

Buisje.	Na 5 min.	10 min.	15 min.	20 min.	25 min.
1	I	II	III	IV	V
2	I—II	II—III	bijna IV	V	bijna VI
3	II	III—IV	IV—V	V—VI	> VI
4	III	bijna V	VI	< VII	bijna VII
5	0	0	0	0	0

Wanneer de pepsine-concentraties zich verhouden als: 1 : 2 : 4 : 9, dan zou de vertering na 5 minuten zich verhouden als 1 : 1.4 : 2 : 3, na 25 min. als 1 : 1.16 : 1.21 : 1.38.

Bovendien zou voor de zwakste oplossing van pepsine de vertering evenredig zijn aan den tijd.

Tegelijk experimenteerde *Korn* met de methode van *Gruenhagen*, waarbij hij de hoeveelheid filtraat meette.

Tabel

Pepsine.	Na 5 min.	10 min.	15 min.	20 min.	25 min.	30 min.
1	0.6 cM³	1.0 cM³	1.7 cM³	2.2 cM³	3.0 cM³	3.6 cM³
4	2.5 „	4.3 „	6.1 „	7.3 „	8.5 „	9.6 „
9	3.1 „	6.4 „	8.5 „	10.1 „	11.7 „	13.0 „
16	4.5 „	7.7 „	9.9 „	11.5 „	14.6 „	15.6 „
0	0.0 „	0.0 „	0.0 „	0.0 „	0.0 „	0.0 „

1) *Korn*: l.c.

Verhouding van de pepsineconc.:	1	: 4	: 9	: 16 .
Vertering in 't begin als:	1	: 4	: 5	: 7.5.
„ later:	1	: 2.6	: 3.6	: 4.3.

Mij dunkt, dat de proef naar *Grützner* al weinig van den regel van *Schütz* laat zien, terwijl de methode naar *Gruenhagen* te onbetrouwbaar is, om er veel aandacht aan te schenken.

Ook de proeven van *Wojwodoff* [1]) laten m. i. niet veel van den regel van *Schütz* zien. Om dit te bevestigen, wil ik één zijner proeven vermelden.

Tabel

Pepsine.	Na 5 min.	10 min.	15 min.	20 min.	25 min.
0.05 cM^3.	< I	I—II	< III	IV	< V
0.10 „	I	II—III	< V	< VII	IX
0.20 „	I—II	III	VI	VIII—IX	> X
0.45 „	< III	VI	VIII	> X	> X

De verhouding der pepsine-concentraties was dus: 1 : 2 : 4 : 9.

Wojwodoff berekent uit deze proef, dat de verhouding van de

vertering na 5 min. =	0.75 : 1 : 1.5 : 2.75 =	1 : 1.33 : 2	: 3.60.
id. „ 10 „ =		1 : 1.66 : 2	: 3.50.
id. „ 15 „ =		1 : 1.75 : 2.18	: 2.90.
id. „ 25 „ =		1 : 1.68 : 2.12	: 2.75.
Men zou verwachten naar *Schütz*:		1 : 1.4 : 2	: 3.

De berekening van *Wojwodoff* is tamelijk wel schatting. Hij zelf schrijft, dat de regel van *Schütz* voor de methode van *Grützner* opgaat en dat de digestie evenredig is met den tijd: „Es kann ja auch nicht anders sein. Nach den heutigen Anschauungen über die Fermente wirkt das Pepsin als Katalysator. Es ist im stande, selbst in kleinen Mengen sehr viel Eiweiss zu spalten; sein Verbrauch ist sehr gering und wie alle Katalysatoren ist es ebenfalls regenerationsfähig."

Het is mij echter niet duidelijk, op welke wijze dit ook maar in de verste verte een verklaring zou kunnen zijn voor den regel van *Schütz*.

Ten slotte ging *Waldschmidt* [2]) de digestie na met de methode van *Grützner*. Hij kleurde echter de fibrine met „Spritblau" en bepaalde de kleur der digestie-vloeistoffen met den colorimeter van *Grützner*.

---

1) *Wojwodoff*: l.c.
2) *Waldschmidt*: l.c.

Tabel

Buisje.	Pepsine.	Na 5 min.	10 min.	15 min.	20 min.
1	0.1 cM³	>I	III—IV	V	VI
2	0.2 „	II	IV—V	V—VI	VI—VII
3	0.4 „	III	V	VI	<VII
4	0.8 „	III—IV	V—VI	<VI—VII	VII
5	1.6 „	IV	VI	VI—VII	VII
6	0.0 „	0	0	0	0

Uit deze gegevens construeert *Waldschmidt* 4 krommen voor de vertering resp. na 5, 10, 15 en 20 minuten, door op de abscis de verhouding der pepsineconcentraties, op de ordinaat de vertering af te zetten.

Zonder een nadere verklaring schrijft hij dan „Aus den Kurven darf man wohl auf die Genauigkeit der Methode schliessen. Wenn wenige oder keine Punkte aus der Kurve herausfallen, so kann man sagen, dass bei dem Versuch geringe oder keine Fehler vorliegen."

Wanneer we zijn uitkomsten echter bezien, dan is het moeilijk hieruit den regel van *Schütz* af te leiden.

We zullen nu de onderzoekingen leeren kennen met de methode van *Volhard*, die den regel van *Schütz* hebben bevestigd.

Volhard[1]) zelf had er al op gewezen dat, wanneer men de producten p.t. gelijk neemt, hierbij dezelfde digestie gevonden wordt i.c. dezelfde vermeerdering van den zuurgraad. Kiest men ze echter verschillend, dan zou het toenemen van de aciditeit evenredig zijn aan den wortel uit het product p.t.

Vooral *Löhlein*[2]) heeft de geldigheid van den regel van *Schütz-Huppert* voor de methode van *Volhard* willen vaststellen, nl. dat:

$A : A' = \sqrt{p \cdot t} : \sqrt{p.' t.'}$ waarin:

A = het toenemen van den zuurgraad.

Hij titreerde met verschillende indicatoren, nl. nitrophenol, alizarine en phenolphtaleïne. In de volgende tabel van *Löhlein* beteekent

A: de zuurgraad van de caseineoplossing zonder pepsine, nl. van 100 cM³ filtraat, na het neerslaan van de caseïne.

B: de zuurgraad van het filtraat na de digestie door 1 cM³ maagsap en praecipitatie van de onverteerde caseine.

B — A: is dus de vermeerdering van de aciditeit onder invloed van 1 cM³ maagsap.

1) *Volhard*: l. c.
2) *Löhlein*: l. c.

C: zuurgraad van het filtraat na digestie door 4 cM³ maagsap.

D: id. door 9 cM³ maagsap.

Hij liet 1 uur digereeren.

Tabel

Indicator:	A.	B.	B—A.	C.	C—B.	D.	D—C.
Nitrophenol:							
spoor	11.5	11.9	0.4	12.5	0.6	13.1	0.6
duidelijk geel .	11.7	12.2	0.5	12.9	0.7	13.5	0.6
maximaal . . .	12.3	12.8	0.5	13.9	1.1	14.9	1.0
Alizarine . . .	11.8	12.3	0.5	13.0	0.7	13.6	0.6
Phenolphtaleïne							
spoor	12.5	13.1	0.6	14.4	1.3	15.7	1.3
rose	12.7	13.3	0.6	14.7	1.4	16.0	1.3
maximaal . . .	13.9	14.8	0.9	16.3	1.5	17.7	1.4

Ik begrijp echter niet, waarom *Löhlein* berekend heeft C—B en D—C, want niet deze, maar C—A resp. D—A is de vermeerdering van de aciditeit door 4 resp. 9 cM³ maagsap.

Ik heb daarom deze in de volgende tabel gerangschikt:

Tabel

Indicator:	B—A.	C—A.	D—A.
Nitrophenol	0.4	1.0 (0.8)	1.6 (1.2)
	0.5	1.2 (1.0)	1.8 (1.5)
Alizarine	0.5	1.6 (1.0)	2.6 (1.5)
	0.5	1.2 (1.0)	1.8 (1.5)
Phenolphtaleïne:	0.6	1.9 (1.2)	3.2 (1.8)
	0.6	2.0 (1.2)	3.3 (1.8)
	0.9	2.4 (1.8)	3.8 (2.7)

De getallen tusschen haakjes zijn berekend uit de vermeerdering van den zuurgraad door 1 cM³ maagsap naar den regel van *Schütz*.

In alle gevallen zijn dus de berekende getallen lager dan de gevondene.

Ik zal nog een proef weergeven, om den invloed van den tijd na te gaan. In de tabel is:

A: als voren.

B: zuurgraad (cM³ $^1/_{10}$ n. NaOH) van 100 cM³ filtraat, na het praecipiteeren van de onverteerde caseine, door 1 cM³ maagsap na een digestie van 1 uur.

C: als B na 4 uur digestie.

D: als B na 9 uur digestie.

Tabel (V naar Löhlein)

Indicator	A.	B.	A—B.	C.	C—B.	D.	D—C.
Nitrophenol:							
spoor geel . .	11.5	11.8	0.3	12.3	0.5	12.9	0.6
duidelijk „ . .	11.7	12.1	0.4	12.7	0.6	13.2	0.5
maximaal . . .	12.3	13.0	0.7	13.7	0.7	14.6	0.9
Phenolphtaleïne:							
spoor	12.5	13.2	0.7	14.3	1.1	15.6	1.3
rose	12.7	13.4	0.7	14.5	1.1	15.9	1.4
maximaal . . .	13.9	14.7	0.8	16.2	1.5	17.9	1.7

Berekenen wij weer C—A en D—A, dan vinden wij:

Tabel

Indicator	B—A.	C—A.	D—A.
Nitrophenol	0.3	0.8 (0.6)	1.4 (0.9)
	0.4	1.0 (0.8)	1.5 (1.2)
	0.7	1.4 (1.4)	2.3 (2.1)
Phenolphtaleïne	0.7	1.8 (1.4)	3.1 (2.1)
	0.7	1.8 (1.4)	3.2 (2.1)
	0.8	2.3 (1.6)	4.0 (2.4)

Volgens *Löhlein* zou de vertering evenredig zijn aan den wortel van den tijd. Ik heb in de laatste tabel de getallen, berekend naar die verhouding uit de digestie na 1 uur, tusschen haakjes geplaatst. Ook nu is de overeenstemming maar zeer matig. Vooral na 9 uur (D—A) schijnt meer te zijn verteerd.

Ik zal niet meer proeven van *Löhlein* weergeven. Ze geven allen hetzelfde resultaat. Het is m. i. voldoende aangetoond, dat de verlangde regelmaat in de proeven van *Löhlein* niet bestaat.

Hij vermeldt, dat hij in een proef, waarin hij liet digereeren 1, 4 en 9 cM^3 maagsap gedurende 1, 4 en 9 uur, zag, dat, wanneer het product $p\,t$ meer dan 16 bedroeg, de zuurgraad niet meer toenam; bv. 4 cM^3 maagsap gaf weinig meer verhooging van den zuurgraad na 9 uur, dan na 4 uur. Wel gaf 9 cM^3 een hoogere aciditeit binnen 4 uur digestie, dan 4 cM^3 maagsap. Hieruit besluit *Löhlein*, dat de factor p meer invloed heeft op het toenemen van den zuurgraad, dan de factor t.

Hij geeft den raad de proeven zoodanig in te richten, de factoren p en t aldus te kiezen, dat de vermeerdering van de aciditeit valt onder de geldigheid van de fermentwet.

Is de pepsine-eenheid die hoeveelheid pepsine, die in 1 uur den zuurgraad 1 cM³ $^1/_{10}$ n. NaOH doet toenemen dan is [1]):

$$a = \sqrt{n.t.x} \text{ of } x = \frac{a^2}{n.t} \text{ waarin:}$$

a = de gevonden vermeerdering van den zuurgraad in cM³ $^1/_{10}$ n. NaOH.
n = hoeveelheid gebruikt maagsap in cM³,
t = duur van de digestie in uren,
x = aantal pepsine-eenheden in 1 cM³ maagsap.

Naar *Löhlein* vermeldt, wilde *Volhard* aanvankelijk alleen het, door het splitsen van de caseine, vrijkomende zoutzuur in het filtraat titreeren, daar de peptonen vooral voor phenolphtaleïne den zuurgraad sterk in de hoogte zouden brengen. Daarom titreerde *Volhard* eerst met alizarine, maar een bezwaar was, dat ook hiermede, wanneer veel pepton gevormd was, geen scherpe omslag werd verkregen. Volgens *Löhlein* kan men toch zeer goed phenolphtaleïne gebruiken, daar ook bij het medetitreeren der peptonen de regel van *Schütz—Huppert* geldig zou zijn. „Es geht daraus als warscheinlich, wenn auch nicht streng bewiesen hervor, dasz die im Laufe der Pepsinverdauung gebildeten Verdauungsprodukte annährend gleiches Alkalibindungsvermögen besitzen".

In tegenspraak met de proeven van *Löhlein* zijn die van *Wojwodoff* [2]), ten minste wat de verhouding met den tijd betreft. Hij meende te mogen besluiten tot directe evenredigheid met den tijd bij de methode van *Volhard*. Ik zal één zijner proeven weergeven. Hij deed telkens 2 parallel-proeven.

Hij nam verschillende hoeveelheden maagsap, liet verschillende tijden digereeren en bepaalde de vermeerdering van den zuurgraad van 100 cM³ filtraat met $^1/_{10}$ n. NaOH en phenolphtaleïne als indicator. In de tabel zijn de cijfers de vermeerdering der aciditeit in cM³ $^1/_{10}$ n. NaOH.

De getallen tusschen haakjes heb ik berekend, wanneer de digestie evenredig was aan den tijd, uit de vertering na 1 uur.

Tabel

Maagsap . .	0.2 cM³	0.4 cM³	0.8 cM³	1.8 cM³
Na 1 uur	0.30	0.40	0.60	1.25
	0.25	0.40	0.60	0.90
Na 2 uur	0.70 (0.6)	0.90 (0.8)	1.36 (1.2)	2.80 (2.5)
	0.50 (0.5)	0.75 (0.8)	1.20 (1.2)	1.90 (1.8)
Na 4 uur	1.20 (1.2)	1.90 (1.6)	2.50 (2.4)	3.65 (5.0)
	1.10 (1.0)	1.75 (1.6)	2.50 (2.4)	3.45 (3.6)
Na 9 uur	2.95 (2.7)	4.52 (3.6)	6.12 (5.4)	8.00 (11.25)
	2.25 (2.25)	3.70 (3.6)	4.75 (5.4)	7.40 (8.10)

1) *Sahli*: l. c. in „Lehrbuch".
2) *Wojwodoff*: l. c.

We zien in deze tabel, dat de waarden voor de twee proeven nog al vrij veel uiteenloopen. *Wojwodoff* meent uit zijn proeven te kunnen afleiden, dat de vertering met den wortel van de pepsineconcentratie evenredig is, maar direct evenredig met den tijd van digestie. Alleen bij 1.8 cM^3 maagsap zou van 4 uur af de vertering achter blijven.

Ik heb in de volgende tabel de digestie berekend uit die van 0.2 cM^3 naar den regel van *Schütz*. De getallen tusschen haakjes zijn gevonden.

Tabel

Maagsap . .	0.2 cM^3	0.4 cM^3	0.8 cM^3	1.8 cM^3
Na 1 uur	0.30	0.42 (0.4)	0.6 (0.6)	0.9 (1.25)
	0.25	0.35 (0.4)	0.5 (0.6)	0.75 (0.9)
Na 2 uur	0.70	0.98 (0.9)	1.4 (1.36)	2.1 (2.8)
	0.50	0.7 (0.75)	1.0 (1.20)	1.5 (1.9)
Na 4 uur	1.20	1.68 (1.90)	2.4 (2.5)	3.6 (3.65)
	1.10	1.54 (1.75)	2.2 (2.5)	3.3 (3.45)
Na 9 uur	2.95	4.13 (4.52)	5.9 (6.12)	8.85 (8.00)
	2.25	3.15 (3.70)	4.5 (4.75)	6.75 (7.40)

Ik wil er op wijzen, dat *Wojwodoff* in zijn proeven geen rekening schijnt te hebben gehouden met den zuurgraad van het maagsap. Hij doet zijn proeven dus bij verschillenden zuurgraad, maar bovenal hij brengt geen correctie daarvoor aan bij de berekening van de vermindering van de aciditeit. Deze zal toch zeker voor het gebruik van 0.2 cM^3 resp. 1.8 cM^3 maagsap nog al verschillen.

Schapiro [1]) deed proeven naar de methode van *Volhard* met oplossingen van pepsine en met maagsap. Zij zag bij het gebruik van maagsap „dass bei Zusätzen, welche geringer sind als diejenigen, für welche das Quadratgesetz gilt, die Verdauungsprodukte rascher anwachsen, als es dem Quadratgesetz entsprechen würde, vielleicht in direkter Proportionalität zu den Pepsinmengen, vielleicht noch rascher".

Voor de oplossing van pepsine zag zij den regel van *Schütz* bevestigd.

Toch meent zij, dat men ook voor het maagsap een zône zou kunnen vinden, waar de regel van *Schütz* geldig is, door nl. sterkere maagsappen in kleinere (minder dan 1 cM^3.), zwakkere in grootere hoeveelheden te nemen (meer dan 5 cM^3).

Over de verhouding met den tijd deed zij geen proeven.

---

1) *Schapiro*: l. c.

Ten slotte heeft *Küttner*[1]) den gang der digestie bij de methode van *Volhard* bestudeerd. Hij heeft echter in afwijking van vorige onderzoekers geen bepaalden regel gevonden, maar zag, dat verschillende regels in elkander overgingen.

Reeds vroeger heb ik de inrichting zijner proeven ten deele beschreven. Hij deed zijn proeven met maagsap van een hond. Uitgaande van 5 cM³, verdunde hij dit met 95 cM³ water. In 1 bracht hij 20 cM³ van dit verdunde maagsap: in 2 15 cM³, in 3 10 cM³ en in 4 5 cM³. De verhouding der pepsineconcentratie's was derhalve als 1 : 0.75 : 0.5 : 0.25.

In de volgende tabel heb ik de uitkomsten van de 1e proefreeks van *Küttner* gerangschikt. De vermeerdering van de aciditeit gaf hij weer in $^1/_{20}$ n. NaOH voor 200 cM³ filtraat. (na toevoeging van een 20 % oplossing van glauberzout bevatte elk kolfje in zijn proeven 400 cM³ vloeistof.)

Berekend 1 : berekend uit de vermeerdering van zuurgraad der zwakste opl. van pepsine naar directe evenredigheid met de pepsineconc.

Berekend 2 : id. naar de wortelverhouding.

Digestie 1 uur bij 40° C.

Tabel (proef I van *Küttner*)

Maagsap.	Gevonden.	Berekend 1.	Berekend 2.
0.25 cM³	4.55	4.55	4.55
0.50 „	13.09	9.10	6.37
0.75 „	22.44	13.65	7.735
1.00 „	29.10	18.20	9.10

Conclusie : We zien, dunkt mij, in deze proef, dat van den regel der directe evenredigheid of van de wortelverhouding weinig of niets voor den dag komt.

In de volgende tabel heb ik de uitkomsten van de 2de proefreeks van *Küttner* weergegeven.

Tabel (proef II van *Küttner*)

Maagsap.	Gevonden.	Berekend 1.	Berekend 2.
1 cM³	22.38	22.38	22.38
2 „	45.76	44.76	31.33
3 „	53.74	67.14	38.05
4 „	64.72	89.52	44.76
5 „	71.70	111.90	50.35

1) *Küttner* : l. c.

Conclusie: Behalve voor maagsapconc. 2, zien we voortdurend een geringere vermeerdering van de aciditeit, dan men zou berekenen naar directe evenredigheid, terwijl bij allen de zuurgraad meer is toegenomen, dan men zou verwachten, wanneer de regel van *Schütz* geldig was.

Daar *Küttner* wist, hoeveel zoutzuur hij gebruikt had om de caseine op te lossen, kon hij uit de aciditeit van het filtraat van de contrôle-vloeistof zonder pepsine na praecipitatie van de caseine, berekenen, hoeveel zoutzuur aan de caseine bij praecipitatie gebonden bleef. In de volgende proef, door mij in onderstaande tabel gerangschikt, zien we dus hoeveel HCl, theoretisch althans, aan de caseine nog gebonden is:

„Gevonden", „Berekend 1" en „Berekend 2", hebben dezelfde beteekenis als in vorige tabellen, terwijl in de laatste kolommen weergegeven wordt, hoeveel zoutzuur (in cM^3 $^1/_{20}$ n. NaOH) aan de caseine oorspronkelijk gebonden was, resp. later nog theoretisch gebonden is.

Tabel

Maagsap.	Gevonden.	Berekend 1.	Berekend 2.	In 't begin gebonden aan caseïne.	Nog gebonden aan caseïne.
0.25 cM^3	2.27	2.27	2.27	21.3	+ 19.03
0.5 „	6.45	4.54	3.18	id.	+ 14.85
0.75 „	11.22	6.81	3.86	id.	+ 10.08
1.0 „	14.59	9.08	4.54	id.	+ 6.71
2.0 „	22.88	18.16	6.36	id.	— 1.58
3.0 „	26.87	27.24	7.72	id.	— 5.57
4.0 „	32.36	36.32	9.08	id.	— 11.06
5.0 „	35.85	45.40	10.22	id.	— 14.55

We zien, dat van de digestie door 2 cM^3 maagsap af de vermeerdering van den zuurgraad grooter wordt gevonden, dan door de hoeveelheid zuur, aan caseine gebonden vòòr de digestie, kan geleverd worden. *Küttner* meende uit zijn proef bovendien te mogen afleiden, dat, wanneer nog theoretisch zuur aan caseine gebonden was, de regel van directe evenredigheid zou gelden, later meer de regel van *Schütz*. Mij dunkt hiervan blijkt niet veel uit bovenstaande tabel. We zien, dat tot en met 2.0 cM^3 maagsap meer verteerd is, dan zou moeten volgen uit directe evenredigheid, daarna minder, terwijl vòortdurend meer wordt verteerd, dan naar de wortelverhouding.

In een tabel heeft *Küttner* nog de uitkomsten van zijn proeven I en II bij elkander geplaatst. Hij had in proef I (zie boven) voor 1 cM^3 maagsap

een zuurvermeerdering gevonden van 2918 cM³ $^1/_{20}$ n. NaOH, in proef II voor 1 cM³ maagsap van 22.38 cM³. Daarom, zegt *Küttner*, moeten we de uitkomsten van proef I met 29.18 — 22.38 = 6.80 cM³ verminderen. Zoo construeert hij zijn tabel, waarin *berekend 1:* naar directe evenredigheid uit de zuurvermeerdering van *2 cM³ maagsap*; *berekend 2*: id. naar den regel van *Schütz.*

Tabel

Maagsap.	*Gevonden.*	*Berekend 1.*	*Berekend 2.*
0.25 cM³	4.55 — 6.8 = — 2.25	5.72	16.23
0.50 „	13.09 — 6.8 = 6.29	11.44	22.83
0.75 „	22.44 — 6.8 = 15.64	17.16	28.10
1.0 „	29.18 — 6.8 = 22.38	22.88	32.45
2.0 „	45.76	**45.76**	**45.76**
3.0 „	53.74	68.64	56.13
4.0 „	64.72	91.52	64.90
5.0 „	71.70	114.4	72.37

Hieruit leidt *Küttner* af, dat bij een vermeerdering van zuurgraad tusschen 46 en 71 cM³ $^1/_{20}$ n. HCl de regel van *Schütz* zou gelden, tusschen 46 en 22 cM³ de regel der directe evenredigheid en ten slotte onder de 22 cM³ geen van beide regels.

We mogen m. i. deze twee proeven absoluut niet met elkander vergelijken, aangezien ze toch, zooals *Küttner* zelf aangeeft, voor 1 cM³ maagsap een verschil in zuurgraadvermeerdering opleverden van 6.8 cM³. Het behoeft daarom geen nader betoog, hoe weinig waarde we moeten toekennen aan hetgeen *Küttner* uit zulk een tabel wil afleiden.

Integendeel, geloof ik, dat de proeven van *Küttner* met de methode van *Volhard* ons duidelijk leeren, dat het onmogelijk is met haar een bepaalde regelmaat te ontdekken in de pepsinewerking.

Gaat de regel van *Schütz* of van directe evenredigheid op, dan is dit een groote toevalligheid.

Voor de methode van *Fuld-Levison* heeft alleen *Kurt Meyer* [1]) getracht den regel van *Schütz-Huppert* aan te toonen.

Hij werkte met een 1 % oplossing van edestine en een 1 % oplossing van pepsine „*Grübler*", beide in $^1/_{33}$ n. HCl opgelost.

Hij bracht in de buisjes verschillende hoeveelheden oplossing van pepsine en edestine, vulde ze alle met $^1/_{33}$ n. HCl aan op 5 cM³ en

1) *Kurt Meyer*: l. c.

bepaalde de vertering (op welke wijze geeft hij niet aan) na 30 min. bij kamertemperatuur.

Het resultaat vinden we in de volgende tabel, waarin

— beteekent: helder blijven na toevoegen van het reagens.
\+ „ : zwak troebel na het reageeren.
++ „ : duidelijk troebel na idem.

Tabel

1 % Edestine-oplossing	Pepsine.			
	0.0025 cM³	0.01 cM³	0.04 cM³	0.16 cM³
0.1 cM³	+	—	—	—
0.2 „	++	+	—	—
0.4 „	++	+	+	—
0.8 „	++	++	++	+
1.6 „	++	++	++	++
3,2 „	++	++	++	++

Meyer meent, dat een blik op deze tabel zou aantoonen, dat de regel van *Schütz* opgaat, immers:

0.01 cM³ pepsine verteert 0.1 cM³ edestine in 30 min.,
0.04 „ „ „ 0.2 „ „ „ 30 „
0.16 „ „ „ 0.4 „ „ „ 30 „

Ik moet er echter op wijzen, dat in de verschillende reeksen de hoeveelheden te verteren eiwit verschillen en hierdoor bovendien de concentratie der H-ionen. Verder is uit deze proef niet te zien, hoe de vertering is, wanneer de hoeveelheden pepsine minder dan telkens 4 × zoo groot worden genomen.

Om den invloed van den tijd op de vertering te bestudeeren, ging *Meyer* op dezelfde wijze te werk. Resultaat in de volgende:

Tabel

	Pepsine in cM³.									
Edestine	0.0025	0.01	0.0025	0.01	0.0025	0.01	0.0025	0.01	0.0025	0.01
0.1 cM³	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—
0.2 „	++	+	++	+	+	—	—	—	—	—
0.4 „	++	++	++	++	++	+	+	—	+	—
0.8 „	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+
1.6 „	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+
3.2 „	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Digestie:	½ u.		1 uur.		2 uur.		8 uur.		32 uur.	

Hieruit zou moeten volgen, dat de vertering evenredig is met den wortel uit den tijd, want:

0,01 cM^3 pepsine verteert 0.1 cM^3 edestine in $^1/_2$ uur, en
0.01 „ „ „ 0.2 „ „ „ 2 „ etc.,

terwijl ook voor langer tijd dan 30 min. de wortelverhouding tusschen de pepsine-concentraties en vertering zou bestaan. De regel van *Schütz—Huppert* zou dus geldig zijn.

Bettmann en Schroeder [1]) gingen den regel van *Schütz* na met de methode van *Hammerschlag*, zooals zij die gewijzigd hadden.

Zij namen een 0.4 % oplossing van pepsine en berekenden hoeveel eiwit verteerd was in procenten.

Tabel

Pepsine-conc.-verhoud.	I.	II.	III.	IV.
1	81.25 %	82.5 %	82.35 %	82.35 %
$^1/_2$	70.55 %	75 %	73.52 %	70.50 %
$^1/_4$	55.88 %	60 %	52.95 %	52.94 %
$^1/_{16}$	29.41 %	30.0 %	26.47 %	26.53 %

In de volgende proef gebruikten zij maagsap, dat bij een patient na proef-ontbijt was uitgeheveld:

Tabel

Maagsap.	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.
1	73.33 %	76.0 %	50 %	30 %	76 %	73.33 %
$^1/_4$	56.66 %	56.0 %	25 %	15 %	56 %	50.00 %
$^1/_{16}$	22.5 %	—	—	—	28 %	—

Uit deze proeven maakten zij de gevolgtrekking, dat de regel van *Schütz* zou gelden wanneer de digestie minder dan 60 % van het eiwit bedroeg. Om derhalve uitkomsten te krijgen, die onder de geldigheid van den regel vallen, moet men een maagsap, dat onder de gewone proefvoorwaarden meer dan 60 % van het eiwit verteert, minstens 4 voudig verdunnen.

III Regel van Borissow

Dat voor de methode van *Mett* de vertering evenredig is met den wortel van de pepsine-concentratie, werd het eerst door *Borissow* [2]) geconstateerd. Dat hier de vertering echter evenredig is aan den tijd, gedurende welken gedigereerd wordt, toonde eenigen tijd later *Ssamojloff* [3]) aan.

1) *Bettmann en Schroeder*: l. c.
2) *Borissow*: gecit. n. *Pawlow*: die Arbeit der Verdauungsdrüsen. S. 32.
3) *Ssamojloff*: gecit n. *Pawlow*.

Pawlow[1]) o. a. schreef aan het feit, dat *Borrissow* en *Schütz* dezelfde wortelverhouding in hun proeven geconstateerd hadden, groote beteekenis toe. „Die Uebereinstimming der Resultate bietet bei der Verschiedenheit der Methoden eine gute Gewähr für die Exaktheit der Regel."

Ssamojloff zag in zijn proeven de evenredigheid met den tijd slechts gedurende de eerste tien uur.

Werkten deze onderzoekers met zuivere hondenmaagsappen, *Linossier*[2]) paste de methode het eerst toe in de kliniek voor het onderzoek van uitgeheveld menschenmaagsap, en ging na of inderdaad de regel van *Borissow* opgaat. In de volgende proef nam *Linossier* resp. 1, 2, 3, 4 en 5 cM^3 maagsap en 4, 3, 2, 1 en 0 cM^3 maagsap, door koken onwerkzaam gemaakt. In alle bracht hij door 0.2 % HCl de vloeistof op 55 cM^3 en in elk 2 buisjes van *Mett*. In deze proef verdunde hij dus (5 op 55 =) 11 maal minstens.

Tabel

Pepsine-verhouding.	*Verteerd* in mM	*Verhouding* van digestie.	*Wortel uit peps.-conc.*	*Peps.-conc.* berekend uit de digestie naar de wortelverhouding.
1	3.559 mM	1.00	1.00	1.00
2	5.183 „	1.456	1.414	2.12
3	6.190 „	1.739	1.732	3.02
4	6.89 „	1.936	2.000	3.75
5	7.572 „	2.128	2.236	4.52

Hieruit trok *Linossier* de conclusie, dat de regel opgaat, maar „quand la quantité de pepsine s'élève, les quantités dissoutes sont inférieures aux quantités prévues par la loi des racines carrée's".

Ook zag hij de vertering evenredig den tijd voortschrijden, b.v.

na 24 uur verteerd: 3.4 mM
„ 48 „ „ 7.0 „
„ 72 „ „ 10.6 „

Volgens *Linossier* zou de regel van *Borissow* niet het gevolg zijn van de inrichting der proef bij de methode van *Mett* maar „elle doit être rattachée à la nature intime de la digestion peptique". Om dit te bewijzen vulde hij glazen buisjes met jodium en bracht deze in oplossingen van natriumthiosulfaat van verschillende concentratie. Hij bepaalde na eenigen tijd de lengte van het deel van het jodium, dat opgelost was en zag dat „les

1) *Pawlow*: die Arbeit etc. S. 33.
2) *Linossier*: l. c. p. 289.

longueurs dissoutes sont plutôt proportionnelles aux quantités d'hyposulfite qu 'à leurs racines carrée's".

Tabel

Op 100 cM³ vloeistof: Natriumthiosulfaat.	*Lengte van opgelost jodium.*	*Verhouding der oplossing.*
0.25 cM³	7.9	1.0
0.50 „	14.1	1.8
0.75 „	16.8	2.1
1.00 „	25.4	3.2

Later spraken *Schütz en Huppert*[1]) de meening uit, dat men uit de uitkomsten van *Ssamojloff* even goed zou kunnen afleiden, dat de hoeveelheid pepsine zich verhoudt als de „Kuben der Verdauungsgeschwindigkeiten". Hierop heeft *Ssamojloff*[2]) weer geantwoord, dat men wel degelijk uit zijn proeven den regel van *Borissow* mag afleiden. Wel zag hij enkele uitzonderingen of liever afwijkingen van den regel. Hij vond, dat bij sterkere oplossingen van maagsap de vertering minder was, dan men volgens den regel van *Borissow* uit de digestie van zwakkere oplossingen zou verwachten. Dit constateerde hij vooral in proeven, waarbij hij het maagsap verdunde met maagsap, dat door koken onwerkzaam was gemaakt, maar toch deed hetzelfde verschijnsel zich voor in proeven, waarbij hij verdunde met zoutzuur. Volgens hem zou deze afwijking veroorzaakt worden door een onbekende stof van het maagsap.

Hetzelfde bevestigden *Nirenstein en Schiff*[3]) voor oplossingen van pepsinum purum van *Merck*. Zij zagen de afwijking beginnen bij een digestie boven 3.9 mM, (vertering aan één zijde van een buisje van *Mett* na 24 uur digestie).

Zoo bv. in de volgende tabel, waarin berekend is naar den regel van *Borissow* uit de digestie van de sterkste verdunning.

Tabel

Verdunning.	*Verteerd mM.*	*Berekend.*
1 maal	5.97 mM	7.76 mM
2 „	4.60 „	5.48 „
4 „	3.76 „	3.88 „
8 „	2.65 „	2.74 „
16 „	2.04 „	1.94 „
32 „	1.45 „	1.37 „
64 „	1.00 „	0.97 „
128 „	0.68 „	0.68 „

1) *Schütz en Huppert*: l. c.
2) *Ssamojloff*: Einige Bemerkungen zu der Methode von *Mett*: Pflüger's Archiv. Bd. 85
3) *Nirenstein en Schiff*: l. c.

Zij meenden, dat deze afwijking niet het gevolg zou zijn van verontreiniging, want zij zagen geen verschillen tusschen proeven, waarin verdund werd met zoutzuur en met door koken onwerkzaam gemaakte pepsineoplossing. Evenmin zou bemoeilijkte diffusie de oorzaak zijn, want stoornissen, hiervan het gevolg, zouden pas bij 7 mM vertering zich laten gelden.

Voor menschelijk maagsap zagen zij echter groote afwijkingen: bv. in een proef met maagsap, verdund met 0.18 % HCl:

Tabel

Verdunning:	Onverdund.	2 maal.	4 maal.	8 maal.	16 maal.	32 maal.
Verteerd na 24 uur:	4.0 mM	5.20 mM	5.20 mM	4.6 mM	3.4 mM	2.5 mM

We zien dus, dat het 2 en 4 voudig verdunde maagsap evenveel en meer verteerd heeft dan het onverdunde. Dit schrijven zij toe aan bepaalde stoffen, die de digestie naar *Mett* storen, want verdunt men het maagsap, in plaats van met zoutzuur, met door koken onwerkzaam gemaakt maagsap, dan wordt de vertering belemmerd, bv.:

α.: 1 cM³ maagsap + 3 cM³ $^1/_{20}$ n. HCl.
β.: 1 cM³ „ + 3 cM³ gekookt maagsap, dan
α. verteert 4.25 mM
β. „ 2.40 „ } na 24 uur digestie.

De belemmerende stoffen zouden voornamelijk zijn oplosbare koolhydraten, NaCl en maagslijm. Zij onderscheidden maagsappen in: 1. „stark behindernde" en 2 „schwach behindernde Säfte".

Groep 1 had meestal een laag vrij zoutzuurgehalte en groep 2 juist een hoog.

Om nu altijd getallen te vinden, die vallen binnen de geldigheid van den regel van *Borissow*, verdunden zij het maagsap 16 maal, nl. 1 cM³ maagsap met 15 cM³ HCl $^1/_{20}$ n. en bepaalden de digestie na 24 uur.

Zij vonden waarden tusschen 0 en 4 mM wisselend, en slechts éénmaal van meer dan 4 mM. Wanneer echter de vertering 0 mM is, dan zou de methode van *Hammerschlag* of de methode met een vlok fibrine nog positieve uitkomsten kunnen geven.

Kaiserling [1]) daarentegen zag de vertering bij een 16-voudige verdunning menigmaal de 4 mM overschrijden. Hij zegt: men zou derhalve het maagsap nog sterker moeten verdunnen, maar dan zouden weer vele maagsappen geen digestie naar *Mett* vertoonen; daarom „Unter welchen Bedingungen das Borissowsche Gesetz einwandsfrei gilt, ist bei jedem einzelnen Magensaft experimentell zu ermitteln".

1) *Kaiserling*: die klinische Pepsinbestimmung nach Mett: Berl. klin. Wochenschrift: No. 44, 1903. S. 1007 en 1008.

Na de afwijkingen van den regel van *Borissow* bevestigd te hebben voor de sterkere oplossingen van pepsine, meent *Cobb*[1]) dat deze veroorzaakt zouden kunnen worden, 1° door de vorming van belemmerende eiwitstoffen, 2° door het verdwijnen van zoutzuur. Is de vertering in een buisje van *Mett* meer of minder ver voortgeschreden „there would be increased difficulty in passage to and from the seat of activity of the fresh and exhausted solution respectively. In this case the disappearance of the proteid column would become slower at its end receded from the end of the tube". Bovendien zou bij de sterkere oplossingen meer eiwit zijn verteerd, waardoor „the solution at large becomes exhausted". In de volgende proeven heeft *Cobb* de digestie van punt tot punt in een buisje van *Mett* willen volgen.

Hij nam eenige buisjes van *Mett* (a), bracht deze in een digestievloeistof en liet ze eenigen tijd digereeren, waarna hij de lengte van de opgeloste eiwitcylindertjes bepaalde, en de buisjes a weer in de vloeistof bracht, maar nu met versche buisjes van *Mett* (b). Na een bepaalden tijd te hebben laten digereeren, bracht hij een derde serie buisjes van *Mett* erbij etc.

We vinden de uitkomst in de volgende tabellen.

Tabel

Digestieperiode:	0	1.	2.	3.	4.
Aantal uren.	0	21.5	43	60	90
verteerd is in *a.*	0	2.41 mM	4.51 mM	7.16 mM	9.85 mM
„ „ „ *b.*	0	0.00	2.12 „	4.76 „	7.38 „
„ „ „ *c.*	0	—	0.00 „	2.51 „	5.26 „
„ „ „ *d.*	0	—	—	0.00	2.77 „

Hieruit heeft *Cobb* de volgende tabel berekend:

Tabel

Bij een diepte van:	0-2.5 mM	2.5-5 mM	5-7.5 mM	7.5-10 mM
is verteerd in periode 2	2.12 mM	2.10 mM	—	—
„ „ „ „ 3	2.51 „	2.64 „	2.65 mM	—
„ „ „ „ 4	2.77 „	2.75 „	2.62 „	2.69 mM

Uit deze proef wil *Cobb* afleiden, dat bij een diepte van 2.5—5 mM de vertering in een buisje van *Mett* 't snelst verloopt, wanneer het maagsap in 24 uur 2.5 mM eiwit oplost, sneller dan bv. van 0—2.5 en 5—7.5 mM. Echter is dit m. i. in 't geheel niet af te leiden uit deze proef, want de digestieperioden zijn verschillend, nl. 21.5 uur, 21.5

1) *Cobb*: l. c.

uur, 17 uur en 30 uur. Gaan we derhalve in *Cobb's* tabel na bv. de digestie in buisje a, dan vinden we:

Verteerd is na $21^1/_2$ uur: 2.41 mM
„ „ „ 43 „ : 4.51 „
„ „ „ 60 „ : 7.16 „ of

in 1^0 periode = $21^1/_2$ uur: 2.41 mM
in 2^0 periode = $21^1/_2$ uur: 2.10 „
in 3^0 periode = 17 uur: 2.65 „

Er is derhalve bij een diepte van 4.51 tot 7.16 mM in 17 uur meer verteerd, dan bij een diepte van 2.41—4.51 mM in 21½ uur, terwijl ook bij een vertering van 0.—2.41 mM meer is verteerd, dan bij digestie van 2.41—4.51 mM In een tweede proef ging hij de vertering na voor verschillende perioden en bepaalde bovendien de digestie telkens van een versche digestievloeistof en nieuwe buisjes van *Mett.*

Duur:	24 uur.	49 uur.	$72^3/_4$ uur.
verteerd in mM	2.14 mM	4.61 mM	7.04 mM
contrôle id.	2.25 „	2.36 „	2.42 „

Hieruit leidde *Cobb* af, dat:

de vertering is
bij een diepte van 0—2.14 mM = 2.14 mM
„ „ „ „ 2.14—4.61 „ = 2.47 „
„ „ „ „ 4.61—7.04 „ = 2.43 „

Stellig zijn ook in deze proef de verschillen niet groot. Het is niet duidelijk in hoeverre kleine meet-fouten hierbij een rol zullen spelen, want we zien dat de verschillen, b.v. in de laatste proef, zeer klein zijn in vergelijking met de verschillen van de contrôlebepalingen.

Cobb zelf schrijft er over: „the interpration of the above seems to be, that digestion is delayed more and more as the end of the proteid column receded from the mouth of the tube, and that further there is a slight initial delay, when digestion starts in a new tube."

Dat werkelijk de vertering dieper in een buisje van *Mett* langzamer gaat, zien we in de volgende proef. Hij liet buisjes tot verschillende diepte digereeren en bracht ze daarna in dezelfde oplossing van pepsine.

Verteerd a. 't begin.	*Idem na 20 uur.*	*Verschil.*
Buisje a: 1.06 mM	7.26 mM	6.20 mM
„ *b*: 8.26 „	13.72 „	5.46 „

Om te bewijzen dat de digestie belemmerd wordt door het ontstaan van splitsingsproducten, nam *Cobb* dezelfde oplossingen van pepsine met telkens een verschillend aantal buisjes van *Mett.* Hij bepaalde de vertering, zooals altijd, van één buisje en vond:

6.46 mM voor de vloeistof met 1 buisje van *Mett.*
6.21 „ „ „ „ „ 2 buisjes „ „
6.03 „ „ „ „ „ 4 „ „ „

In de volgende proef evenzoo:

2.17 mM voor de vloeistof met 1 buisje van *Mett.*
2.12 „ „ „ „ „ 2 buisjes „ „
2.07 „ „ „ „ „ 4 „ „ „

We zien derhalve, vooral in de 2e proef, zeer kleine verschillen.

In de volgende proef bracht hij behalve de buisjes van *Mett* in de digestievloeistoffen nog eiwitcylindertjes met een middellijn van 2.8 mM ter lengte van resp. 16 en 96.5 mM. Hij vond de vertering van de buisjes van *Mett:*

Voor de vloeistof met eiwitcylindertje van 16 mM lengte: 2.40 mM
„ „ „ „ „ „ 96.5 „ „ : 2.32 „
„ „ „ zonder „ : 2.44 „

Toch schrijft *Cobb*, dat de afwijkingen door het ontstaan van splitsingsproducten „are still inadequate to explain the tremendous differences seen in the case of strong pepsinsolutions between the actual result and the one anticipated from the rule of square roots", en later, dat ze niet zijn „due to inhibition, but to a fundamental difference in the behavior of the pepsin itself under those conditions."

Wel zag *Cobb*, dat er bij zeer geconcentreerde oplossingen remming bestond, waarvoor hij als verklaring geeft, 1°. „that the large amount of proteid in the solution may combine with some of the hydrochloric acid, thereby reducing the peptic activity of the solution and 2°. the greater viscosity of the stronger solution would retard circulation and consequently reduce the column digested". Echter gelooft hij, dat nog een andere, onbekende factor in 't spel is „since the solution of the coagulum is not complete in the very strong pepsinsolutions, a translucent, yellylike mass, being left in the tube at the end of the test".

Door dialyse tegenover 0.25 % HCl kon *Cobb* die geconcentreerde oplossingen van pepsine werkzamer maken. Er zijn daardoor dus belemmerende stoffen verwijderd. Wil men dus, volgens *Cobb*, het pepsinegehalte van een maagsap naar de methode van *Mett* bepalen, dan moet men verschillende verdunningen maken met hetzelfde HCl-gehalte: „the absolute

pepsinvalue can be deduced from those members of the series, which give results consistent with the rule of square roots".

In plaats van sterkere belemmering te vinden bij anacide maagsappen, zooals *Nirenstein* en *Schiff* dat constateerden, zagen *Fuld* en *Blum* [1]) het juist bij normale of hyperacide maagsappen. Zij nemen als verklaring hiervoor aan, het bestaan van antipepsine. De afwijking van den regel van *Borissow* voor sterkere oplossingen van maagsap of pepsine zou misschien ontstaan door „die gleichzeitige Anwesenheit des Hemmungskörpers mit seiner eigentümlichen Wirkungskurve".

Zonder me verder te verdiepen in de vraag over het al of niet bestaan van een bepaalde stof „antipepsine" wil ik, op grond van de medegedeelde onderzoekingen, er den nadruk op leggen, dat dus bij de methode van *Mett* twee dingen geconstateerd zijn, die goed uit elkander moeten worden gehouden, 1°. dat in maagsappen, vooral in niet of weinig verdunden toestand, menigmaal stoffen voorkomen, die, op welke wijze dan ook, de vertering belemmeren, en 2°. dat sterkere oplossingen van pepsine minder verteren, dan men zou berekenen naar den regel van *Borissow* uit zwakkere.

Op het eerste feit hebben *Nirenstein* en *Schiff* het eerst de aandacht gevestigd, terwijl de verklaring voor het tweede feit m. i. door geen der onderzoekers is gebracht.

In den laatsen tijd is nog een uitvoerige studie verschenen van de hand van *J. Christiansen* [2]) over de methode van *Mett.* Zij wilde zich allereerst een oordeel vormen over de diffusiesnelheid van het zoutzuur in buisjes van *Mett.* Hiertoe vulde zij buisjes met door methyloranje of lakmoes gekleurd eiwit. Zij zag, dat het eiwit door een digestievloeistof in 24 uur over een lengte van 10 mM verteerd was, terwijl het zoutzuur volgens de kleurreactie over een afstand van 31 mM was binnengedrongen. Hieruit besluit ze, dat de diffusie van zoutzuur te snel geschiedt, om veel invloed op de snelheid van vertering te hebben.

Zij meent verder, dat in ieder geval bij de methode van *Mett* de diffusie van de pepsine geen moeilijkheid van beteekenis oplevert. Want volgens de diffusiewet zou de vertering evenredig moeten zijn met den wortel uit den tijd, terwijl zij, en alle andere onderzoekers vonden, dat bij de methode van *Mett* de vertering evenredig aan den tijd verloopt. Zij heeft zich dan ook met kracht verzet tegen de bewering van *Arrhenius* [3])

---

1) *Blum en Fuld:* Ueber das Vorkommen eines Antipepsins im Magensaft. Zeitschr. f. klin. Medicin. Bd. 58. 1906. S. 505.

2) *J. Christiansen:* l. c.

3) *Arrhenius:* in Immunochemie. S. 80.

„dasz Versuche mit Mettschen Röhrchen nicht zur Entscheidung dieser Fragen verwandt werden können. Denn die Diffusionsgeschwindigkeit kommt dabei neben der chemischen Reaktion zur Geltung, und wenn die Diffusion der langsamere der beide Vorgänge ist, so bewirkt sie, dasz die Verdauung proportional zur Quadratwurzel aus Zeit und Konzentration fortschreitet".

Ook *J. Christiansen* zag, dat later de oplossingen van pepsine minder gaan verteren, dan men uit de evenredigheid met den tijd zou berekenen. Zij meent, dat deze afwijking zeker ten deele veroorzaakt wordt door bemoeilijkte diffusie van de pepsine. Zij zag echter, dat deze afwijking toenam met het grooter worden van de zuurconcentratie. Daarom gelooft zij, dat deze ook ten deele haar oorzaak moet vinden in de schadelijke werking van het zoutzuur op het enzym. Om dit te bewijzen, heeft zij 5 oplossingen genomen van 0.5 % *Armour's* pepsine resp. in water, $^1/_{40}$ n. $^1/_{20}$ n. $^1/_{10}$ n. en $^1/_5$ n. HCl. Zij bracht deze in den thermostaat bij 37° C. Na verschillende tijden nam ze uit elke oplossing een bepaalde hoeveelheid, bracht deze door verdunnen op dezelfde HCl- en pepsine-conc. (n.l. $^1/_{10}$ n. HCl en 0.25 % pepsine) en bepaalde de digestie na 24 uur bij 37° C.:

Tabel

Zoutzuur conc. .	0.	$^1/_{40}$ n.	$^1/_{20}$ n.	$^1/_{10}$ n.	$^1/_5$ n.
Aan 't begin . .	12.6 mM	12.6 mM	12.6 mM	12.6 mM	12.6 mM
Na 1 dag . .	12.20 „	12.0 „	12.0 „	11.6 „	9.2 „
„ 3 dagen .	10.3 „	11.3 „	10.8 „	9.7 „	7.4 „
„ 10 „ . .	7.2 „	9.5 „	9.2 „	6.4 „	4.5 „
„ 18 „ . .	—	7.2 „	6.0 „	3.7 „	1.7 „
„ 30 „ . .	—	6.9 „	5.3 „	2.6 „	0.5 „
„ 68 „ . .	—	4.0 „	2.3 „	0.2 „	0 „
„ 100 „ . .	—	2.5 „	1.2 „	0 „	0 „

Inderdaad zien we, dat de oplossing van pepsine door bewaren bij 37° C. achteruitgaat, maar als we bedenken, dat in 24 uur bij een zuurgraad van $^1/_{40}$ n. en $^1/_{20}$ n. de vertering slechts 0.6 mM achteruit is gegaan, dan kunnen wij, meen ik, aan dezen factor bij den gewonen proefduur van 24 uur geen gewicht van belang toekennen.

Even weinig bewijzend vind ik haar volgende proef. Zij nam 3 oplossingen van pepsine met verschillenden zuurgraad (n.l. 0, 16 en 57 in getallen van *Günzburg*), verwarmde deze langzaam één uur op het waterbad. Was de temp. gestegen tot resp. 55°, 60° en 65° C., dan nam ze van

ieder een proefje, bracht dit op denzelfden zuurgraad en bepaalde de vertering na 24 uur bij 37° C. Zij vond:

Tabel

Temp.	55° C.	60° C.	65° C.
Bij zuurgraad 0	13.2 mM	13.0 mM	12.20 mM
„ „ 16	12.1 „	11.8 „	1.8 „
„ „ 57	10.3 „	5.8 „	0.0 „

Ook hier zien we dus de schadelijke werking van hoogere temperaturen op oplossingen van pepsine, te meer naar mate de zuurconcentratie grooter is, maar toch leert ons deze proef niets over den invloed van de lichaamstemperatuur op een oplossing van pepsine bij den gebruikelijken duur der proef. Het is natuurlijk wel bijna absoluut zeker, dat ook hierdoor de werkzaamheid der pepsine achteruit gaat, maar ik meen, dat de methode van *Mett* te weinig gevoelig is om zulk een verandering te laten uitkomen.

Om de belemmerende werking van een maagsap na te gaan, verdunde zij in de volgende proef een menschelijk maagsap met een zuurwaarde van 0.066 n, deels met HCl van dezelfde aciditeit, deels met door koken onwerkzaam gemaakt maagsap. De vertering bepaalde zij weer na 24 uur bij 37° C.

Tabel

Verhouding der verdunningen.	*Verdund met 0.066 n. HCl.*	*Verdund met geinaktiveerd maagsap.*	*Vertering, berekend uit de digestie van verd. $^1/_{128}$ naar Borissow.*
1	19.2 mM	— mM	45.6 mM
$^1/_2$	20.2 „	— „	32.8 „
$^1/_4$	17.9 „	— „	22.8 „
$^1/_8$	14.2 „	14.2 „	16.4 „
$^1/_{16}$	10.8 „	10.9 „	11.8 „
$^1/_{32}$	7.5 „	7.8 „	8.2 „
$^1/_{64}$	5.9 „	5.8 „	5.7 „
$^1/_{128}$	4.1 „	4.1 „	4.1 „

Uit deze tabel zou moeten volgen, dat de belemmering van de 8-voudige verdunning af is opgeheven, terwijl de afwijking van den regel van *Borissow* begint bij een vertering van 8 mM. Mij dunkt, deze tabel illustreert

nog eens duidelijk hetgeen ik vroeger zeide over de twee dingen, belemmering en afwijking van den regel van *Borissow*, die we goed uit elkander moeten houden.

Zij construeerde voor sterk verdunde oplossingen van maagsap van mensch en hond en voor oplossingen van pepsine uit den handel krommen bij verschillenden zuurgraad. Deze wisselde van $^1/_{10}$ tot $^1/_{20}$ normaal. Uit deze krommen leidde ze af, dat $y^{2.45} = k\,x$, waarin y = vertering in mM, k = constante en x = hoeveelheid pepsine. Volgens den regel van *Borissow* had ze moeten vinden: $y^2 = k.\ x$. Ook deze afwijking van den regel van *Borissow* zou volgens haar het gevolg zijn van 1°. die „Diffusionsverhältnisse" en 2° „die schädigende Wirkung der Salzsäure auf das Pepsin".

Zij meent, dat men nooit een pepsine-eenheid zal kunnen vinden, daar de verschillende pepsinepraeparaten dikwijls een verschillend zoutzuuroptimum hebben. Zij heeft dit optimum voor verschillende praeparaten bepaald. Hiervoor berekende zij de waterstofionenconcentratie door titratie met behulp van het reagens van *Günzburg*. Zij constateerde, dat het optimum voor menschelijke pepsine lager ligt dan voor dierlijke pepsine. Wanneer het optimum verschuift met den tijd, dan zou dit in dien zin zijn, dat het bij langer proefduur bij een lagere zoutzuurconcentratie ligt. Dit verklaart zij weer uit de schadelijke werking van het zoutzuur.

Sörensen [1]) daarentegen zag, dat het optimum, bij het verlengen der proefduur, naar de zure zijde wordt verschoven. Hij zegt: van de pepsine is de „Selbstzerstörung um so deutlicher, je alkalischer die Versuchsflüssigkeit ist".

Ten slotte heeft *Christiansen* nog een maagsap en een oplossing van *Armour's* pepsine volgens de methoden van *Mett* en *Liebmann* vergeleken.

Zij vond dat volgens de methode van

Liebmann : maagsap = 0.05 % oplossing van A.'s pepsine
van *Mett* : „ = 0.5 % „ „ „ „

Zij weet voor dit verschil geen verklaring te geven.

Volgens *Grützner* [2]) zullen, gesteld, dat in een oplossing van pepsine n-maal zooveel moleculen voorkomen, als in een tweede oplossing, niet n × meer moleculen werken op de eenheid van eiwitoppervlakte, bv. in een buisje van *Mett*, maar $\sqrt[3]{n^2}$ zooveel. Men zou dit kunnen bevestigen, door bij de

---

1) *Sörensen*: l. c. in Biochem. Zeitschr. Bd. XXI.

2) *Grützner*: Ueber die Lösung fester Stoffe.
Wiener. Med. Wochenschr. No. 39. 1910. S. 2270.
„ Ueber die sogenannten Fermentgesetze.
Münch. Med. Woch. 1910. S. 1917.

methode van *Mett* de belemmerde werking der stagneerende digestie-producten uit te schakelen. *Grützner* deed dit door buisjes van *Mett*, aan de bovenzijde gesloten, loodrecht in digestie-vloeistoffen opgehangen, te laten verteren. Echter geeft hij geen getallen, die de juistheid der onderstelling aantoonen.

Korn, [1]) leerling van *Grützner*, nam zeer eenvoudige proeven, om den storenden invloed van die digestie-producten aan te toonen. Hij vulde glazen buisjes met eiwitoplossing, gekleurd door karmijn en liet deze digereeren, loodrecht opgehangen in de digestie-vloeistof. Hij zag, dat de bovenzijde van de buisjes minder snel verteerd werd en dat hier de plaats, waar het eiwit was verteerd, nog intensief rood was gekleurd.

In een volgende proef wilde *Korn* aantoonen, dat een digestie-vloeistof in een schaaltje, dat 3 cM hoog was, in den loop der digestie van eenige buisjes van *Mett*, onderin meer remmende peptonen bevatte, dan bovenin de vloeistof.

Hiertoe liet hij buisjes van *Mett* onderin en bovenin de vloeistof — het laatste door de buisjes te laten drijven door middel van stukjes kurk — digereeren en bepaalde na 2, 4 en 6 uur de digestie. De buisjes onderin de vloeistof waren bijna steeds minder verteerd. De verschillen zijn echter zóó gering, dat ik meen, dat zij meer het gevolg zijn van fouten in de meting, dan wel, dat op zulk een wijze een verschil in peptonenrijkdom van de verschillende deelen van de vloeistof zou zijn aan te toonen. Volgens *Effront* [2]) zou *Duclaux* dezelfde berekening (l^3 / n^2) hebben gemaakt als *Grützner*, maar *Effront* zegt, dat proeven de juistheid daarvan niet hebben bevestigd. Volgens *Duclaux* „la différence serait imputable à ce que la diffusion ne renouvelle pas assez rapidement les surfaces à l'intérieur du tube, lorsque la puissance de la diastase augmente, ce qui a pour effet de restreindre la longueur d'albumine, qui aurait dû être dissoute."

Ten slotte wil ik nog wijzen op een waarneming van *Pawlow* en *Parastschuk* [3]). In een proef namen zij maagsap en verdunden dit met water. Zij zagen „dasz die Fermentmenge und die Zahl — und nicht ihr Quadrat — der Millimeter des verdauten Eiweiszstäbchens direkt proportional sind".

Zij hadden buisjes gevuld met gestold kippeneiwit en serumeiwit.

---

1) *Korn*: l. c.

2) *Effront*: l. c. P. 202 en 203.

1) *Pawlow en Parastschuk*: Ueber die ein und demselben Eiweiszfermente zukommende proteolytische und milchkoagulierende Wirkung verscheidener Verdauungssäfte — Zeitschr. f. physiol. Chemie — Bd. 42. 1904. S. 415. 447 en 448.

Tabel

Verdunning:	Kippeneiwit-buisje.	Serumeiwit-buisje.
8 maal	2.2 mM	4.6 mM
12 „	1.5 „	3.3 „
16 „	1.1 „	2.3 „
20 „	0.85 „	1.8 „
24 „	0.75 „	1.5 „
32 „	0.50 „	1.1 „

Volgens hen zou men bij verdunnen met HCl 2 factoren wijzigen „ausser dem Fermentgehalte in dem Medium vergrössern wir in fortlaufender Progression auch den relativen Säuregehalt im Vergleich zu demjenigen des Fermentes, womit wir die Reaktion progressiv beschleunigen.

Bei Verdünning mit Wasser aber verändert sich in Wirklichkeit nur der Fermentgehalt in dem Medium, während das Verhältniss zwisschen Ferment- und Säurekonzentration das nämliche bleibt, d. h. die Reaktion wird nicht beschleunigt".

IV Regel der directe evenredigheid

Door niet vele onderzoekers is de regel der directe evenredigheid gevonden. Zoo meende o.a. *Schiff*[1]) dat men a priori geen directe evenredigheid mocht verwachten tusschen vertering en pepsine-concentratie, omdat oplossingen van pepsine allerlei verontreinigingen zouden bevatten, die de werking belemmeren. In proeven met sterk verdunde oplossingen, i.c. van een infuus van een kattenmaag, zag hij wel evenredigheid; b.v. in de volgende tabel:

Tabel

Verhouding van pepsineconc.	*Hoeveelheid verteerd albumine.*
1	3.25 gram.
1/2	1.64 „
1/4	0.70 „

Sawjaloff[2]) meende, dat de regel van *Schütz* voor grootere tijdsinter-

1) *Schiff*: l. c. p. 82 en 85.

2) *Sawjaloff*: Zur Frage der Identität von Pepsin und Chymosin. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 46. S. 307.

vallen zou gelden. Onderzocht men na korter tijden, dan zou men directe evenredigheid mogen verwachten. Hij zag dit bevestigd in een proef met karmijnfibrine, waarbij de digestie 10—15 min. duurde. Na de vertering bracht hij de digestievloeistoffen op Marlifilters en bepaalde de kleursterkte der filtraten met den colorimeter van *Dubosq*. Hij heeft het resultaat in de volgende tabel weergegeven, waarin de digestie van de zwakste oplossing = 1 gesteld is.

Tabel

Verdunning:	*Onverd.*	*2-voudig.*	*4-voudig.*	*8-voudig.*	*16-voudig.*
Digestie:	16.0	8.2	3.7	1.7	1.0
„	16.0	7.4	—	2.4	1.0
„	14.6	7.4	3.4	1.7	1.0
„	15.2	8.4	3.8	1.9	1.0
„	15.2	8.4	3.4	1.9	1.0
„	17.6	8.8	—	1.9	1.0
„	16.0	7.2	4.4	1.8	1.0
„	16.8	8.0	4.2	1.9	1.0
„	15.2	—	3.8	1.9	1.0
„	16.0	—	—	—	1.0
„	15.2	—	—	—	1.0
„	15.2	—	—	—	1.0
„	16.8	—	—	—	1.0
„	16.0	—	—	—	1.0
Gemiddeld:	15.8	8.0	3.8	1.9	1.0

In deze tabel zien we dit vrijwel bevestigd. 't Is echter eigenaardig, dat geen der onderzoekers met de methode van *Grützner*, die toch nog korter tijd lieten digereeren, dergelijke uitkomsten kregen.

Dat voor de methode van *Mett* deze eenvoudige regel niet opgaat, is volgens *Sawjaloff* het gevolg hiervan, dat de enzymconcentratie in het buisje van *Mett* lager is dan in de omgevende vloeistof. Hij heeft in proeven gewerkt met glazen buisjes, die gevuld waren met een mengsel van gelatineoplossing en een waterig extract van een varkensmaagslijmvlies. Hij nam 30—40% roode gelatineoplossing, vermengde met het extract in verschillende verdunningen en vulde de buisjes ermede bij 40° C. Terstond bracht hij deze daarna bij 0° C., waardoor de inhoud vast werd. Om te laten digereeren, deed hij ze in schaaltjes met $^1/_{10}$ n. HCl bij kamertemperatuur. 't Resultaat zien wij in de volgende tabel.

Tabel

Proef.	*Onverdund.*	*2 maal.*	*4 maal.*	*8 maal.*	*16 maal verdund.*
I	—	6.5 mM	3.1 mM	1.5 mM	0.6 mM
II	7.0 mM	—	1.5 „	0.76 „	0.42 „
III	6.7 „	—	1.6 „	0.8 „	0.98 „
IV	—	2.7 „	4.4 „	—	—
V	4.8 „	2.7 „	—	—	—
VI	4.0 „	2.0 „	—	—	—
VII	5.8 „	3.3 „	—	0.9 „	—
VIII	6.1 „	3.5 „	—	0.6 „	—
IX	8.5 „	—	—	0.8 „	—
X	5.6 „	2.7 „	—	—	—

Om een beter overzicht te krijgen, heb ik in de volgende tabel uit de zwakste verdunning de vertering berekend volgens directe evenredigheid.

De getallen tusschen haakjes zijn gevonden.

Tabel

Proef	*Onverd.*	*2 maal.*	*4 maal.*	*8 maal.*	*16 maal verdund.*
I	9.6 mM	4.8 mM (6.5)	2.4 mM (3.1)	1.2 mM (1.5)	0.6 mM
II	6.72 „ (7.0)	3.36 „ —	1.68 „ (1.5)	0.84 „ (0.76)	0.42 „
III	15.68 „ (6.7)	7.84 „ —	3.92 „ (1.6)	1.96 „ (0.8)	0.98 „
IV	17.6	8.8 (2.7)	4.4	—	—
V	5.4 (4.8)	2.7	—	—	—
VI	4.0 (4.0)	2.0	—	—	—
VII	7.2 (5.8)	3.6 (3.3)	1.8	0.9	—
VIII	4.8 (6.1)	2.4 (3.5)	1.2	0.6	—
IX	6.4 (8.5)	3.2	1.6	0.8	—
X	5.4 (5.6)	2.7	—	—	—

We zien in deze tabel dat inderdaad een aanduiding bestaat van genoemden regel, maar dat de gevonden en berekende getallen dikwijls veel uit elkaar loopen.

In de volgende proef vergeleek hij de vertering, wanneer buisjes met zoogenaamde geladen gelatine en niet-geladen gelatine gevuld waren. De eerste bracht hij in $^1/_{10}$ n. HCl, de laatste in een oplossing van het

extract, waarvan de enzymconcentratie dezelfde was als in de geladen gelatine en waarin de zuurgraad ook dezelfde was als van de $^1/_{10}$ n. HCl oplossing.

Tabel

Proef.	*Duur.*	*Geladen buisjes.*	*Niet geladen.*
I	6 uur.	3.8 mM	0.66 mM
II	6 „	7.2 „	0.32 „
III	3 „	5.8 „	0.60 „
IV	6 „	8.5 „	0.70 „

Volgens *Sawjaloff* zou de regel van *Borissow* voor de methode van *Mett* de uitdrukking zijn van de verdeeling van het enzym tusschen de beide phasen, oplossing en eiwitgel.

Is de pepsine-concentratie in het gel $= c_1$, in de vloeistof $= c_2$, dan zou volgens hem de regel gelden, dat $\frac{c_1}{\sqrt{c_2}}$ = constant is.

De volgende tabel zou dit bewijzen, waarin de pepsine-concentraties zich telkens verhouden als 2 : 1.

Tabel

Proef.	*Duur.*	Pepc. conc.	Geladen.	Ongeladen	$\frac{c_1}{\sqrt{c_2}}$
I	6 uur	2 x	3.8 mM	0.66 mM	$\frac{0.66}{\sqrt{3.8}} = 0.34$
		x	1.6 „	0.43 „	$\frac{0.43}{\sqrt{1.6}} = 0.34$
II	15 uur	2 x^1	12.7 „	3.5 „	$\frac{3.5}{\sqrt{12.7}} = 0.97$
		x^1	7.4 „	2.3 „	$\frac{2.3}{\sqrt{7.4}} = 0.85$

Daarom schreef *Sawjaloff*: „Somit erklärt sich die Anomalie *von Borissow* aus dem Teilungsgesetze des Pepsins zwischen Wasser und Eiweiszgel".

Ten slotte heeft *Gross* [1]) met zijn caseinemethode getracht den regel der directe evenredigheid aan te toonen.

---

1) *Gross*: l. c.

In de volgende proef liet hij telkens 50 cM³ zijner caseine-oplossing door verschillende hoeveelheden pepsine digereeren, telkens met behulp van natriumacetaat-oplossing onderzoekend of al de caseine verteerd was:

Tabel

Kolfje.	Caseineopl.	Maagsap.	Verteerd na:
1	50 cM³	1.0 cM³	20 min. 30 sec.
2	„	2.0 „	10 „ 35 „
3	„	4.0 „	5 „
4	„	8.0 „	2 „ 40 „

Hieruit volgt dus de regel van *Brücke.*

In de volgende proef nam *Gross* juist verschillende hoeveelheden caseine.

Tabel

Kolfje.	*Caseineopl.*	*Maagsap.*	*Verteerd na.*
1	5 cM³	0.05 cM³	6 min. 20 sec.
2	6 „	„	7 „ 28 „
3	7 „	„	8 „ 40 „
4	8 „	„	10 „ — „
5	10 „	„	13 „ 20 „
6	12 „	„	14 „ 30 „
7	14 „	„	17 „ — „
8	16 „	„	21 „ 10 „

Uit deze tabel concludeert *Gross*, dat in n. maal langer tijd ook n. maal meer caseine verteerd wordt, terwijl hieruit en uit de geldigheid van den regel van *Brücke* zou moeten volgen, dat $c = f\ t$, waarin

c = hoeveelheid verteerd caseine.
t = tijd.
f = hoeveelheid pepsine.

Terecht heeft *Reichel*[1]) de conclusies van *Gross* bestreden, want schrijft hij „*Gross* variiert auszer Wirkung und Zeit die Substratmenge, und, da er mit Wasser verdünnt, überdies die Azidität und die osmotische Konzentration". Hij wees erop, dat de invloed van de concentratie van het substraat niet voldoende bekend is en dat de osmotische concentratie

1) *Reichel*: die Gesetze der peptischen Verdauung. Wien. klin. Wochenschrift 1908· No. 30. S. 1085.

zeker een rol zal spelen; dat derhalve „die Verhältnisse das Ergebniss *Gross'*, dasz die n-fache Kaseinmenge auch die n-fache Zeit zur Verdauung braucht, nicht als verwertbare Feststellung erscheinen lassen".

Door verschillende onderzoekers die de zgn. grensmethoden gebruikten, is bepaald de kleinste hoeveelheid maagsap of oplossing van pepsine, die in staat was onder de gegeven voorwaarden een bepaalde hoeveelheid eiwit te verteren. Zij berekenden dan uit deze gegevens hoeveel eiwit 1 cM^3 van het onverdunde maagsap zou kunnen verteren, uitgaande van de veronderstelling, dat n × meer maagsap dan ook n × zooveel eiwit zou kunnen verteren. Aldus bepaalden zij de sterkte van het maagsap in eenheden. Enkele voorbeelden mogen dit verduidelijken.

Had bv. in de proeven van *Solms* [1]) 0.2 cM^3 van een 100-maal verdund maagsap de 2 cM^3 1 % ricineoplossing in 3 uur bij 37° C. helder gemaakt, dan was de sterkte van het onverdunde maagsap $100 \times {}^{1}/_{2} = 500$ eenheden: omdat volgens *Solms* 1 cM^3 onverdund maagsap 500 × 2 cM^3 1 % ricineoplossing helder zou hebben kunnen maken.

Fuld en *Levison* [2]) vonden, dat 0.25 cM^3 maagsap, dat 20-maal verdund was, 2 cM^3 1‰ edestineoplossing in 30 min. bij kamertemperatuur zóódanig had veranderd, dat door NaCl-oplossing geen troebelheid meer ontstond. Zij berekenden, dat dan 1 cM^3 onverdund maagsap $20 \times 4 \times 2 = 160$ cM^3 1‰ edestineoplossing had kunnen omzetten. Derhalve was de sterkte van het maagsap 160 pepsine-eenheden.

Gross [3]) nam als eenheid aan die oplossing van pepsine, waarvan 1 cM^3 in staat was 10 cM^3 van zijn caseineoplossing in 15 min. bij 39—40° C. zóódanig te veranderen, dat door natrium-acetaatoplossing geen troebelheid meer ontstond.

Stel dat *Gross* voor een maagsap vond, dat 0.03 cM^3 hetzelfde kon doen, dan was de sterkte van dit maagsap $\frac{100}{3} = 33$ pepsine-eenheden.

Op dergelijke wijze maakten ook *Indemans,* [4]) *Rose* [5]) en *Kohlenberger* [6]) hunne berekeningen.

Bijna elk onderzoeker heeft op zijne wijze een pepsine-eenheid aangenomen.

We mogen m.i. deze berekening wel volgen, maar dan moet als eerste eisch gesteld worden, dat altijd de verschillende proefvoorwaarden precies dezelfde zijn. We zullen derhalve altijd dezelfde hoeveelheid substraat in

---

1) *Solms*: l. c. 2) *Fuld u. Levison*: l. c. 3) *Gross*: l. c. 4) *Indemans*: l. c.
5) *Rose*: l. c. 6) *Kohlenberger*: l. c.

dezelfde concentratie en denzelfden zuurgraad moeten nemen; gedurende denzelfden tijd bij dezelfde temperatuur moeten laten digereeren?

Men zal zijn proeven niet mogen doen nu eens met een 1 %, dan weer met een 1 ‰ oplossing van edestine, of nu eens bij kamertemp. dan weer bij lichaamstemperatuur.

Het behoeft nauwelijks nog gezegd, dat de verschillende pepsine-eenheden in 't geheel niet onderling kunnen worden vergeleken.

Verder dient er nog op te worden gewezen, dat ook de oplossingen van de verschillende eitwitpraeparaten constant van samenstelling moeten zijn, hetgeen, zoover ik in de litteratuur heb kunnen nagaan, nooit is gecontroleerd.

Tal van moeilijkheden zou men inderdaad kunnen ontgaan, wanneer men telkens met een contrôlevloeistof, waartoe men dan een oplossing van pepsine van bekende concentratie en met constante samenstelling zou kunnen nemen, het maagsap vergeleek, zoodat men de sterkte van dit maagsap in die van de oplossing kon uitdrukken. Dit is o.a. gedaan door *Indemans* [1]).

Hij nam als contrôlevloeistof 1 gram pepsine uit de pharmacopee, 10 gram 25 % HCl en water tot 500 cM^3.

Deze oplossing bevatte derhalve per cM^3 2 mgr. pepsine. In een serie reageerbuisjes deed hij nu 2 cM^3 1 % edestineoplossing en resp. 0.1, 0.2, etc. tot 1 cM^3 pepsineoplossing. In elk buisje zit derhalve 20 mgr. edestine. Na 30 min. bij kamertemp. bepaalde hij in welk buisje met NH_3 geen troebelheid meer ontstond. Stel, dat 0.8 cM^3, bevattend 1.6 mgr. pepsine, de edestine had verteerd, dan zou 1 cM^3 van de pepsineoplossing hebben kunnen verteren 20 mgr. $\times \frac{10}{8} = 25$ mgr. edestine, of 1 mgr. pepsine $\frac{25}{2} = 12.5$ mgr. edestine.

In een tweede serie buisjes deed hij dezelfde hoeveelheden edestine en resp. 0.1, 0.2, etc. tot 1.0 cM^3 maagsap, dat hij wilde onderzoeken. Wanneer nu door 0.4 cM^3 maagsap geen ring meer ontstond door NH_3, dan waren door 0.4 cM^3 maagsap 20 mgr. edestine verteerd; door 1 cM^3 derhalve $\frac{200}{4} = 50$ mgr. of wel bevatte 1 cM^3 maagsap $\frac{50}{12.5} = 4$ mgr. pepsine. Het maagsap zou dus gelijk zijn aan een 0.4 % oplossing van de pepsine uit de pharmacopee.

---

1) *Indemans*: l. c.

Reeds *Brücke*[1]) had als methode, om de sterkte van een maagsap te bepalen, aangegeven dit te vergelijken met een ander maagsap. Van beide maakte hij verschillende verdunningen, zóódanig dat de zuurgraad gelijk was, en dan bracht hij in alle buisjes eenzelfde hoeveelheid fibrine. Na een bepaalden tijd noteerde *Brücke* in welke buisjes van beide reeksen de vertering op het oog gelijken tred hield.

Brücke bracht de te onderzoeken vloeistoffen eerst op denzelfden zuurgraad, nl. 1‰ HCl. In beide serie's bracht hij achtereenvolgens 16, 8, 4, 2, 1, 0.5 en 0.25 cM³ van de vloeistoffen en 0, 8, 12, 14, 15, 15.5 en 15.75 cM³ 0.1 % HCl. Ten slotte deed hij in elk buisje „möglichst gleichmässig ausgewählte Fibrinflocken".

Vloeistof I

Buisje:	*Pepsine opl.*	*HCl 0.1 %.*
A	16 cM³	0 cM³
B	8 „	8 „
C	4 „	12 „
D	2 „	14 „
E	1 „	15 „
F	0.5 „	15.5 „
G	0.25 „	15.75 „

Vloeistof II

Buisje:	*Pepsine opl.*	*HCl 0.1 %.*
a	16 cM³	0 cM³
b	8 „	8 „
c	4 „	12 „
d	2 „	14 „
e	1 „	15 „
f	0.5 „	15.5 „
g	0.25 „	15.75 „

Wanneer nu vloeistof II 4 × meer pepsine bevat dan I, dan zal *c* met A, *d* met B, *e* met C, *f* met D en *g* met E dezelfde digestie vertoonen. *Brücke* zag echter dikwerf verschillen, b.v. dat *c* met B of zelfs *a* met A overeenkwam, terwijl in dezelfde proefreeks *f* en D en *g* en E de fibrine even ver hadden verteerd.

In zulke gevallen moet men volgens *Brücke* de relatieve hoeveelheid pepsine schatten naar de meer verdunde oplossingen. Intusschen zal het

1) *Brücke*: l. c.

niet gemakkelijk zijn op 't gezicht te bepalen, in welke buisjes de fibrinevlokken evenver verteerd zijn.

Hierbij dient echter in aanmerking te worden genomen, dat *Brücke* zich geenszins voorstelde meer dan een schatting uit zijn proeven af te leiden.

V

Ten slotte zullen we nu nog eenige onderzoekingen moeten bespreken, die speciaal ten doel hadden den gang van de pepsine-digestie te bestudeeren, waarvoor ten deele methoden gebruikt zijn, die niet voor klinisch onderzoek geschikt zijn, daar ze te gecompliceerd zijn.

Reeds bij de bespreking van den regel van *Brücke* heb ik in 2 tabellen de resultaten weergegeven van een reeks van proeven van *Sjöqvist*[1]) en tevens vermeld, dat hij voor het tweede gedeelte van zijn krommen, die hij uit die gegevens had geconstrueerd, een bepaalde formule had afgeleid nl. dat $\frac{d\,x}{d\,t} = \text{const. P. } (10.40 - x)$, waarin:

x = hoeveelheid omgezet eiwit.
t = tijd in uren.
P = relatieve pepsine-conc.
10.40 = hoeveelheid verteerbaar eiwit.

Zooals we weten, gaf *Sjöqvist* in zijn tabellen weer de hoeveelheid $^1/_{10}$ n. H_2SO_4 noodig, om de hoeveelheid NH_3 te neutraliseeren uit 5 cM^3 filtraat, nadat het onverteerde eiwit was verwijderd.

Was van 5 cM^3 al het eiwit opgelost, dan werd door deze 5 cM^3 10.40 cM^3 $^1/_{10}$ n. H_2SO_4 verbruikt bij de N. bep. naar *Kjeldahl.*

Op de volgende wijze heeft *Sjöqvist* deze formule nu afgeleid en vervolgens aan de waarneming weer getoetst.

Uit de gegevens van de vroeger medegedeelde tabellen heeft *Sjöqvist* voor iedere pepsine-concentratie, zooals hij vermeldt, een gereduceerde tijdcurve berekend en telkens van de vier curven het gemiddelde genomen. Aldus kreeg hij:

Tabel

Pepsine × tijd =	*1*	*2*	*3*	*4*	*6*	*8*	*10*	*12*	*16*	*20*	*24*	*30*
Pepsine: 0.5 . . .	3.16	4.05	4.70	5.20	6.10	6.87	7.60	8.12	8.92	—	—	—
„ 1.0 . . .		4.12	4.74	5.25	6.07	6.72	7.25	7.76	8.50	9.01	9.45	9.95
„ 2.0 . . .				5.27	6.12	6.75	7.24	7.67	8.40	8.95	9.45	10.0
„ 4.0 . . .						7.00	7.40	7.80	8.35	8.85	9.19	9.60
Gemiddeld	3.16	4.08	4.72	5.24	6.10	6.84	7.38	7.84	8.54	8.94	9.39	9.85
Verschil		0.92	0.64	0.52	0.43	0.37	0.27	0.23	0.175	0.10	0.107	0.077

1) *Sjöqvist*: l. c.

In deze tabel geeft het verschil de digestie-snelheid weer bij aanwezigheid van de eenheid van pepsine in de eenheid van tijd. Deze verschillen bracht *Sjöqvist* weer in een curve, waarna hij deze, wat hij noemt „ausgeglichen" heeft en aldus de „berekende" verschillen heeft verkregen. Gaat men omgekeerd weer uit van deze „berekende" verschillen, dan zou men aldus de gemiddelden „berekend" kunnen vinden:

Tabel

Gemiddeld:	3.16	4.08	4.72	5.24	6.10	6.84	7.38 etc.
Verschil:	0.92	0.64	0.52	0.43	0.37	0.27	„
Verschil berekend:	0.92	0.66	0.525	0.425	0.35	0.277	„
Gemiddeld „	3.16	4.08	4.74	5.26	6.15	6.85	7.41 „

Laat men nu volgens *Sjöqvist* de digestie-snelheid van de eerste 2 uur buiten beschouwing, dan is de snelheid van vertering in het daaropvolgend uur (zie tabel) 0.66, daarna 0.525 etc.

Is de hoeveelheid verteerbaar eiwit aan 't begin = 10.40, dan is deze hoeveelheid na het eerste uur: $10.40 - \frac{4.08 + 4.74}{2} = 5.99$;

na het tweede uur: $10.40 - \frac{4.74 + 5.26}{2} = 5.40$ etc.

Deze hoeveelheden heeft *Sjöqvist* in de volgende tabel gerangschikt:

Tabel

Tijd:	2.5 uur	3.5 uur	5 uur	7 uur	9 uur	11 uur etc.
Snelheid:	0.66	0.525	0.425	0.35	0.27	0.222 „
Rest:	5.99	5.40	4.68	3.89	3.26	2.77 „

Volgens *Sjöqvist* zou men door integratie uit zijn formule kunnen verkrijgen, dat:

$-\log_{nat.}(10.40 - x) = 0.0924\ P.t + A.$

Hieruit leidt hij weer af:

$\log.(10.4 - x) - \log.(10.4 - x_0) = \frac{0.0924}{2.3025} P\ (t_0 - t)$, waarin 0.0924 zou zijn de gemiddelde snelheid (2.96), gedeeld door het gemiddelde nog verteerbaar eiwit (32.03). Zetten we in de laatste vergelijking voor $x_0 = 4.08$ en voor $t_0 = 2$, dan kunnen we telkens x berekenen. Aldus de tabel:

Tabel

	1	*2*	*3*	*4*	*6*	*8*	*10*	*12*	*16*
Gevonden . .	3.16	4.08	4.72	5.24	6.10	6.84	7.38	7.84	8.54
Berekend . .	3.44	*4.08*	4.64	5.15	6.04	6.77	7.39	7.90	8.67

We zien derhalve werkelijk een goede overeenstemming, waaruit we mogen afleiden, dat de omzetting inderdaad evenredig is met de hoeveelheid nog te verteren eiwit.

Het is natuurlijk onjuist, zooals *Sawjaloff*[1]) dat deed, zonder meer te zeggen, dat *Sjöqvist* heeft bewezen dat de digestie evenredig zou zijn aan de hoeveelheid pepsine, daar hij in zijn formule tegelijk een verband heeft gelegd tusschen digestiesnelheid en hoeveelheid verteerbaar eiwit.

Sjöqvist meende in het begin zijner krommen te zien, dat de digestie den regel van *Schütz* volgde. Hij berekende nl. uit die krommen de digestie na $^1/_2$ en 1 uur. Zoo vond hij:

Pepsine-conc.	*Na* $^1/_2$ *uur.*	*Na 1 uur.*
0.5	1.4	2.25
1.0	2.1	3.15
2.0	2.85	4.00
4.0	4.00	5.10

Is deze regel geldig, dan moeten in beide reeksen telkens de uitkomsten gelijk worden, wanneer de „vertering" gedeeld wordt door den wortel uit de pepsineconcentratie:

$1.4 : \sqrt{^1/_2} = 2.0$ en $2.25 : \sqrt{^1/_2} = 3.18,$
$2.1 : \sqrt{1} = 2.1$ $3.15 : \sqrt{1} = 3.15,$
$2.85 : \sqrt{2} = 2.04$ $4.00 : \sqrt{2} = 2.84,$
$4.00 : \sqrt{4} = 2.00$ $5.10 : \sqrt{4} = 2.55.$

In een volgende proevenreeks bepaalde *Sjöqvist*[2]) de vermindering van het electrisch geleidingsvermogen. Hij bereidde 4 vloeistoffen met zoutzuur, pepsine en bracht in elk 2.23 gram eiwit. De zuurgraad was 0.05 normaal, de hoeveelheid pepsine resp. 2.5; 5; 10 en 20 cM^3 op 100 cM^3 vloeistof. Hij bepaalde telkens van proefjes, na deze van 37° op 18° C. te hebben afgekoeld, het electrisch geleidingsvermogen.

In zijn tabel is μ = moleculair electrisch geleidingsvermogen.

$\triangle$ = vermindering van het electrisch geleidingsvermogen.

Hij heeft bovendien in zijn tabel berekend $\frac{10\triangle}{\sqrt{P}}$. Is dit telkens op denzelfden tijd voor de verschillende pepsine-concentraties een constant getal, dan is dit een bewijs voor de geldigheid van den regel van *Schütz*. Ik geef maar een gedeelte van zijn tabel weer.

1) *Sawjaloff*: l. c. 2) *Sjöqvist*: l. c.

Tabel

Pepsine conc.	μ	μ	Δ	$\frac{10\,\Delta}{\sqrt{P}}$	μ	Δ	$\frac{10\,\Delta}{\sqrt{P}}$	μ	Δ	$\frac{10\,\Delta}{\sqrt{P}}$	μ	Δ	$\frac{10\,\Delta}{\sqrt{P}}$	μ	Δ	$\frac{10\,\Delta}{\sqrt{P}}$	μ	Δ	$\frac{10\,\Delta}{\sqrt{P}}$
no. I: ½	188.4							177.3	11.1	157	171.1	17.3	245	167.4	21	297	163.1	25.3	358
„ II: 1	„				178.2	11.2	102	172.8	15.6	156	164.7	23.7	237	159.5	28.9	289	153.5	34.9	349
„ III: 2	„	179.2	9.2	65	174.2	14.2	100	165.9	22.5	160	154.8	33.6	237	148	40.4	286	140.8	47.6	337
„ IV: 4	„	176	12.4	62	167.8	20.6	103	157.9	30.3	153	144.5	43.9	220	137.2	51.5	256	130.1	58.3	292
tijd in uren.	0	½ uur.			1 uur.			2 uur.			4 uur.			6 uur.			9 uur.		

Volgens *Sjöqvist* zou werkelijk deze regelmaat bestaan, in zijn proef tot een 6-urige digestie.

Deze uitkomst laat in verband met den uitslag van de vorige proef van *Sjöquist* nog eens duidelijk uitkomen, hoe bepaalde verhoudingen in de pepsine-digestie ten nauwste samenhangen met de gevolgde methode. Immers in zijn vorige proef bestond er een aanwijzing van den regel van *Schütz* slechts tot een proefduur van 1 uur.

Later heeft *Arrhenius*[1]) voor de laatste proef van *Sjöqvist* nog eens aangetoond, dat de regel van *Schütz—Huppert* tot een zekere grens opgaat. Hij stelde de pepsine-concentraties als 0.025; 0.05; 0.1 resp. 0.2 en nam de tijden als uren. Hij kon dan telkens de vertering nagaan bij dezelfde producten $p\,t$: bv. (zie tabel boven):

$p = 0.025$ en $t = 2$ uur dan $p.t. = 0.05$ en $\Delta : 11.1$

$p = 0.05$ en $t = 1$ uur „ „ $= 0.05$ en $\Delta : 11.2$ etc.

Berekend: wanneer de digestie evenredig was met $\sqrt{p.t.}$

Tabel

$P\,.\,t$	0.05	0.1	0.2	0.4	0.8	1.6	3.2	4.8 etc.
$P = 0.025$	11.1	17.3	23.9	32.0	42.2	53.4	—	—
$P = 0.05$	11.2	15.6	23.7	32.9	43.2	55.3	67.0	74.0
$P = 0.1$	9.2	14.2	22.5	33.6	45.2	57.3	69.0	75.3
$P = 0.2$	—	12.4	20.6	30.2	43.7	55.4	66.8	73.6
Gemiddeld	10.2	14.9	22.7	32.2	43.8	55.4	67.6	74.3
Berekend .	11.0	15.6	22.0	31.2	44.0	62.4	88.0	—

Wanneer derhalve het product $p\,t$ niet de waarde 1 overschrijdt, schijnt inderdaad de vertering evenredig te zijn met den wortel uit $p\,t$.

Bovendien stelde *Arrhenius* een formule op, waarin

$x =$ constante.

---

1) *Arrhenius*: Immunochemie, Leipzig 1907, en *id.* „Ueber die Schützsche Regel bei Reaktionsgeschwindigkeiten: Meddelanden från K. Vetenskapsakademiens. Nobelinstitut Bd. I. no. 91.

$\times$ = de hoeveelheid eiwit (albumine), die gebonden is aan HCl.
$A - \times = \triangle$: de hoeveelheid chloorwaterstofzuur gebonden door de albumosen. Aldus:

$$-\frac{d\times}{dt} = x\,\frac{\times}{A-\times}.\ P;$$

$-\frac{d\times}{dt}$ = zou zijn de geleidingsvermindering in de tijdseenheid = digestiesnelheid.

Volgens *Arrhenius* kan men door differentiatie uit de vergelijking afleiden:

$A(\log. A - \log. \times) + \times - A = x\,P\,t$. Ware $\times$ nagenoeg constant, dan zou de integraal de vorm krijgen:

$A - \times = \sqrt{x\,P\,t}$, dus is de hoeveelheid verteerd albumine evenredig aan den wortel uit tijd en concentratie (regel van *Schütz-Huppert*), hetgeen we in bovenstaande tabel tot het product $p\,t = 1$ bevestigd zagen.

Wij zullen nu de studie van *Grützner*[1]) „Ueber Fermentgesetze" bespreken.

Reeds vroeger zagen we, dat hij bij de bestudeering van de pepsinewerking drieërlei methoden onderscheidde en sprak:

I°: van de „Schwannsche Versuche".
II°: van de „Brückesche Versuche".
III°: van de „Wilhelmysche Versuche".

Bovendien wees hij er op, dat men onderscheid moet maken tusschen den toestand van het substraat, of dit b.v. in vasten of opgelosten toestand is.

I A: *Substraat in vasten toestand.*

In de volgende proef liet *Grützner* stukjes gecoaguleerd eiwit van 2 gram in oplossingen van pepsine met verschillende concentratie digereeren en bepaalde door wegen na 6 uur digestie hoeveel opgelost was.

Tabel

Verhouding der peps.-conc.	*Opgelost eiwit* in grammen.
1	0.287 gram.
2	0.391 „
4	0.588 „
8	0.664 „
16	0.840 „
32	0.875 „
64	0.982 „

1) *Grützner*: l. c. in *Pflüger's* Archiv. Bd. 141. S. 63.

Uit deze gegevens construeerde *Grützner* een kromme en zag dat deze in 't begin een parabel was, maar dat spoedig de sterkere oplossingen van de pepsine minder verteerden.

In een volgende serie werkte *Grützner* met zijn karmijnfibrine-methode. De uitkomsten zijn in de volgende tabel weergegeven.

Tabel

Peps. conc.	Na 3 min.	7 min.	14 min.	21 min.	30 min.	44 min.
0.05 cM³.	0	0	bijna II	II	III	IV
0.1 „	0	0	II	III	< IV	V
0.2 „	0	bijna II	< III	IV	IV—V	VI
0.4 „	0—I	II	III—IV	< V	V—VI	bijna VII
0.8 „	bijna II	II—III	IV	V—VI	VI	VII
1.6 „	II	IV	V	VI	VI—VII	—

Grützner leidt uit deze proef af, dat de vertering in 't begin evenredig zou zijn met de pepsine-concentratie, na ± 14 min. met den wortel uit de pepsine-conc., ten slotte „später gehen sie (de krommen, die men uit de tabel kan afleiden) in andere über."

I. B. *Substraat in opgelosten toestand.*

Grützner deed proeven met een 0.2 % caseine-oplossing in 0.1 % zoutzuur. Hij liet verteren bij 38° C. gedurende 1¼, 2½, 5 en 10 minuten met verschillende verdunningen van een extrakt van een varkensmaagslijmvlies. Na de digestie behandelde hij gelijke porties met geelbloedloogzout, centrifugeerde en vergeleek de neerslagen. Wanneer de proef slechts 1¼ minuut duurde, zag hij weer, dat de digestie evenredig was aan de concentratie der pepsine; na 2.5 min. was de curve een parabel, terwijl nog later de krommen een meer horizontaal beloop hadden.

Volgens *Grützner* zouden in 't begin der digestie nog weinig remmende digestie-producten gevormd zijn en zou het enzym nog weinig geleden hebben, terwijl bij een bepaalde verhouding tusschen hoeveelheid enzym en digestie-producten parabels zouden ontstaan.

II. Bij de proeven naar *Brücke* kan men volgens *Grützner*: 1°. dezelfde hoeveelheid substraat nemen, maar verschillende hoeveelheden pepsine; 2°. dezelfde hoeveelheid enzym, maar verschillende hoeveelheden substraat; 3°. dezelfde hoeveelheid pepsine en substraat, maar verschillende hoeveelheden vloeistof.

Daar echter, naar het mij voorkomt, in de proeven onder 2° en 3° genoemd, verschillende factoren, nl. pepsine-concentratie, substraatconc., zuurgraad, gevarieerd worden, hebben alleen die onder 1° genoemd werkelijk waarde voor de studie van de digestie door pepsine. Daarom zal ik ook alleen die proeven van *Grützner* vermelden.

In een reeks reageerbuisjes bracht hij 10 cM³ 0.1 % caseineoplossing in 0.1 % HCl en verschillende hoeveelheden oplossing van pepsine. Op bepaalde tijden nam hij een proefje uit de digestievloeistoffen en onderzocht met natriumacetaat of er nog een troebelheid ontstond. Hij noteerde den tijd, waarna dit niet meer het geval was:

I	10 cM³.	caseineopl.	+ 0.1	cM³	pepsineopl.	+ 1.5	cM³ 0.1 %	HCl.
II		„	+ 0.2		„	+ 1.4	„	„
III		„	+ 0.4		„	+ 1.20	„	„
IV		„	+ 0.8		„	+ 0.8	„	„
V		„	+ 1.6		„	+ 0.0	„	„

Digestie bij 38° C.

Tabel

Buisje.	*Verteerd na:*	*Verhouding der tijden:*
I	83 min.	16.6
II	42 „	8.4
III	22 „	4.4
IV	11 „	2.2
V	5 „	1

Wij zien derhalve in de proef den regel van *Brücke* bevestigd.

Wanneer echter de caseineoplossingen sterker genomen werden, b.v. 1.0 %, dan hadden de sterkere pepsineconcentraties naar verhouding meer tijd noodig, dan de zwakkere, bv. in een proef met 1 % caseineoplossing.

De verhouding der pepsine-concentraties is weer als: 1 : 2 : 4 : 8 : 16.

Tabel

Buisje.	*Verteerd na:*	*Verhouding der tijden:*
I	681 min.	3.7
II	516 „	2.83
III	386 „	2.12
IV	259 „	1.4
V	182 „	1

III. Voor de derde methode heeft *Grützner* weer zijn karmijnfibrine gebruikt, maar nu de kleuren bepaald met zijn colorimeter.

Hij deed in reageerbuisjes telkens 15 cM^3 0.1 % HCl, evenveel karmijnfibrine — 1.5 cM hoog — en resp. 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 en 1.6 cM^3 oplossing van pepsine en resp. 1.5, 1.4, 1.2, 0.8 cM^3 0.1 % HCl.

Tabel

Buisje.	*Peps. conc.*	Na 5 min.	10 min.	15 min.	20 min.
No. 1	*1*	0	I½	II	II½
„ 2	*2*	I	II	III	III¼
„ 3	*4*	I¼	II¼	> III	III½
„ 4	*8*	I½	II½	III¼	> III½
„ 5	*16*	II	bijna III	bijna III½	> III½

Uit deze tabel kan men weer de vertering zoeken bij dezelfde producten $p\,t$; b.v.:

$p = 1.\ t = 20$ min. dus $p\,t = 20.$ Vertering = II½.
$p = 2.\ t = 10$ „ „ „ $= 20.$ „ = II .
$p = 4.\ t = 5$ „ „ „ $= 20.$ „ = I½.

Wij zien derhalve, dat voor de kleinere waarden van p, de vertering bij dezelfde producten $p\,t$ grooter is. Dus zooals *Grützner* schrijft „Sie (de grootere peps.-conc.) verdauen verhältnissmässig zu wenig."

Grützner besluit uit zijn proeven „dass kein einheitlicher Gesetz während des ganzen Verlaufes eines Prozesses andauernd besteht."

Hedin [1]) heeft erop gewezen, dat, wanneer een pepsine-oplossing zooveel enzym bevat, dat het substraat er volkomen mede verzadigd is, dan de verdeeling van het enzym over substraat en splitsings-producten niet onafhankelijk zou zijn van zijn hoeveelheid. Dan zou een proef met veel enzym minder digestie moeten vertoonen dan een proef met minder enzym, maar met overeenkomstig langer tijd van digestie. Dit zou dus de verklaring zijn van de afwijking van den regel van *Brücke*, zooals die in de laatste proef van *Grützner* voor den dag komt.

---

1) *Hedin*: l. c. S. 472.

HOOFDSTUK III

EIGEN ONDERZOEK

Voornamelijk deed ik mijn proeven met oplossingen van varkenspepsine en hondenpepsine, beide bereid naar het voorschrift van *Pekelharing* [1] [2].

De varkenspepsine werd bereid uit de mucosa van varkensmagen: een aantal slijmvliezen van varkensmagen werden van het fundusgedeelte afgeprepareerd en gedurende twee dagen bij 37° C. gedigereerd op een bepaalde hoeveelheid zoutzuur van 0.5 % (op 10 mucosae 6 Liter). De troebele vloeistof werd gefiltreerd door zuigfilters, waarin een samengeperste pap van filtreerpapier. Het heldere filtraat werd gebracht in perkamenten dialysators in stroomend water. Na 24 uur dialyseeren was de inhoud der dialysators weer troebel geworden. Door centrifugeeren werd het neerslag afgescheiden, dat verder werd gezuiverd door oplossen in 0.2 % zoutzuur bij 37° C., filtreeren en weer neerslaan door dialyse tegen gedistilleerd water.

Door basisch loodacetaat en ammonia werd een tweede portie enzym verkregen uit het filtraat, waaruit de eerste hoeveelheid door dialyse was neergeslagen. Door genoemde stoffen ontstond een vlokkig praecipitaat. Dit werd gefiltreerd, tusschen filtreerpapier eenigszins uitgeperst, en nu met oxaalzuur behandeld, om het lood te binden. Na eenigen tijd staan bij 30° C. bezonk het loodoxalaat als een wit poeder, dat nu afgefiltreerd werd. Werd de vloeistof nu weer gedialyseerd tegen stroomend water, dan praecipiteerde het enzym. Door centrifugeeren en drogen werd de pepsine als een iets bruin gekleurd poeder verkregen. Door haar op te lossen in 0.2 % zoutzuur, dialyseeren etc. werd de pepsine verder gezuiverd.

Ten slotte werd uit de vloeistof, die afgegoten was na het centrifu-

---

1) *Pekelharing*: Ueber eine neue Bereitungsweise des Pepsins. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 22. S. 233.
id. Over een nieuwe bereidingswijze van Pepsine: Onderzoekingen v. h. Physiol. laboratorium te Utrecht. Reeks IV. Deel IV. blz. 170.

2) *Pekelharing*: Mittheilungen über Pepsin. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 35. S. 8
id. Mededeelingen over Pepsine. Onderzoekingen etc. Reeks V. Deel III. blz. 376.

geeren van de met oxaalzuur behandelde en gedialyseerde vloeistof, door verzadigen met ammoniumsulfaat het nog aanwezige enzym neergeslagen.

Dit neerslag werd met een weinig zoutzuur van 0.2 % in een dialysator gebracht in herhaaldelijk ververscht HCl 0.2 %.

Door de dialyse werd het ammoniumsulfaat verwijderd. De inhoud van den dialysator werd bij 37° C. verwarmd, waardoor de pepsine in oplossing ging en gefiltreerd. Door dialyse tegen gedestilleerd water werd de pepsine neergeslagen, gedroogd en fijn gewreven.

De hondenpepsine werd bereid uit het maagsap van een hond, waarbij een slokdarm- en maagfistel waren aangelegd. Wanneer de hond vleesch kauwde en doorslikte, scheidde de maagmucosa een helder maagsap af. Dit werd door de fistel opgevangen en terstond gefiltreerd, om slijmvlokjes te verwijderen. Het maagsap werd ± 20 uur gedialyseerd tegen gedestilleerd water. Er ontstond dan een troebelheid van pepsine. Deze werd door centrifugeeren afgescheiden. Het bezinksel in de centrifugebuisjes werd op een filtertje gebracht, met een weinig gedestilleerd water uitgewasschen, uitgeperst, van het filter genomen, gedroogd in een exsiccator en tot poeder fijngewreven in een mortiertje. Door het neerslag bij 37° C. op te lossen in 0.2 % zoutzuur en daarna ten tweeden male te dialyseeren tegen gedestilleerd water kon men het praeparaat verder reinigen.

Nadat uit de vloeistof deze hoeveelheid pepsine was verwijderd, werd door halve verzadiging met ammoniumsulfaat de nog aanwezige pepsine neergeslagen. Het neerslag werd weer, om het te bevrijden van ammoniumsulfaat, gedialyseerd tegen 0.2 % zoutzuur, daarna bij 37° C. opgelost,en door dialyse tegen gedestilleerd water weer neergeslagen.

De uit het varkensmaagslijmvlies bereide pepsine was altijd lichtgeel van kleur. De door dialyse uit het maagsap van den hond neergeslagen pepsine was bij den vroeger door *Pekelharing* gebruikten hond — behalve wanneer er gal in de maag was gekomen — geheel kleurloos, bij het thans tot onze beschikking staande dier echter gewoonlijk een weinig grijs of, ook bij afwezigheid van galkleurstof, geel van tint. Zij loste bij 37° C. slechts langzaam en niet volkomen op in HCl 0.2 %. Werd deze oplossing weder door dialyse tegen water neergeslagen, dan werd een zuiver wit poeder verkregen, dat in zoutzuur wat langzaam, maar volkomen oploste. De uit het gedialyseerde maagsap met amononiumsulfaat neergeslagen pepsine was volmaakt kleurloos en loste bij lichaamstemperatuur gemakkelijk en volkomen in zoutzuur 0.2 % op.

Voor de proeven werd een nauwkeurig afgewogen hoeveelheid pepsine eerst eenige uren in een weinig zoutzuur van 0.2 % geweekt bij kamertemperatuur. Daarna werd de rest van de afgemeten hoeveelheid zoutzuur

er bij gedaan en nu de oplossing bij 37° C. gedurende één uur voltooid.

De vloeistof werd zoonoodig gefiltreerd, om kleine verontreinigingen te verwijderen. Voor het verdunnen werd bijna altijd 0.2 % zoutzuur gebruikt, (wanneer het niet afzonderlijk vermeld wordt, is 0.2 % HCl gebruikt).

METHODE VAN METT.

Zooals ik vroeger zeide, is het bereiden van de buisjes van *Mett* een belangrijke factor voor de nauwkeurigheid van de methode. Ik zal daarom allereerst een beschrijving geven, van de wijze, waarop ik de buisjes van *Mett* maakte.

In een wijde, groote reageerbuis deed ik een sterke natronloogoplossing. Hierin bracht ik een aantal glazen buisjes met een diameter van ± 2 mM en een lengte van circa 25 cM, waarna de vloeistof gedurende een halven dag zacht verwarmd werd. Nu werd de loog afgegoten en met gedestilleerd water volkomen weggespoeld. Daarna kwamen de buisjes een halven dag in een chroomzuuroplossing te staan. Deze werd eveneens afgegoten waarna met gedestilleerd water werd nagespoeld. Ten slotte werden de buisjes bij 150° C. gedroogd en aan beide uiteinden uitgetrokken.

Het wit van eenige kippeneieren werd geklopt. Daarna werd het eenige uren in een vacuumklok geplaatst, om de lucht er uit te verwijderen.

De buisjes werden met het eiwit volgezogen en nu aan beide einden dichtgesmolten. Zij werden in een bak met kokend water gebracht, dat nog 5 minuten aan den kook werd gehouden. De buisjes bleven in het water, totdat het geheel was afgekoeld.

Ik sneed van de buisjes stukjes ter lengte van $1^1/_2$ cM, bewaarde deze in 0.2 % zoutzuur met eenige kristalletjes thymol tegen bederf. Alleen die buisjes werden gebruikt, die, althans makroscopisch geen luchtbelletjes meer bevatten en waarbij het eiwit met het glazen buisje glad was afgesneden. Ik bepaalde de lengte van het verteerde eiwitcylindertje met behulp van een geijkten oculairmikrometer onder het microscoop tot $^1/_{30}$ mM. Voor een proef deed ik telkens in een glazen doosje 10 cM^3 digestievloeistof met 2 buisjes van *Mett*. Na de vertering bepaalde ik de vertering van de twee buisjes en nam hiervan het gemiddelde. Ik geef dus in mijn tabellen de vertering van één buisje van *Mett*.

Meestal was de grens van opgelost en niet-opgelost eiwit scherp te zien en kon er precies op worden ingesteld. Slechts zelden was deze niet duidelijk of was het beloop scheef, zoodat de meting dan minder nauwkeurig werd.

De vertering had plaats bij 37° C.

Proef 1

I 10 cM³ 0.02 % oplossing van varkenspepsine 4 × verdund.
II " " " " " 8 × "
III " " " " " 16 × "
IV " " " " " 32 × "

Ik heb de uitkomst in de volgende tabel (I) weergegeven waarin beteekent:

Gevonden: de gemeten lengten van het opgeloste deel van één buisje van *Mett* in mM.

Berekend 1: berekend in mM uit de digestie, die bij de eerste bepaling (hier na 6 uren) gevonden was, naar den regel van de evenredigheid met den tijd.

Berekend 2: berekend uit de zwakste pepsine-concentratie (IV) naar den regel van *Borissow.*

Tabel I

Pepsine . .	I.			II.			III.			IV.	
	Gevond. mM	Berek. 1. mM	Berek. 2. mM	Gevond. mM	Berek. 1. mM	Berek. 2. mM	Gevond. mM	Berek. 1. mM	Berek. 2. mM	Gevond. mM	Berek. 1 mM
Na 6 uur .	1.57	1.57	1.38	1.0	1.0	0.98	0.65	0.65	0.69	0.49	0.49
„ 18 „ .	4.435	4.71	4.82	3.39	3.0	3.44	2.30	1.95	2.41	1.72	1.47
„ 21 „ .	5.115	5.50	5.60	3.9	3.5	4.0	2.89	2.28	2.8	2.0	1.715
„ 24 „ .	5.935	6.28	6.76	4.615	4.0	4.83	3.315	2.60	3.38	2.415	1.96
„ 27 „ .	6.6	7.06	7.42	5.05	4.5	5.30	3.60	3.01	3.71	2.65	2.175
„ 41½ „ .	9.4	10.83	11.0	7.25	6.9	7.86	5.13	4.49	5.50	3.93	3.38

Om een beter overzicht van de uitkomsten te krijgen heb ik telkens een stel krommen geconstrueerd.

In Fig. Ia—VIa: is 1^0 op de ordinaat afgezet de tijd in uren; 2^0 op de abscis de vertering in mM.

We krijgen dus voor elke pepsine-concentratie een lijn, die het beloop van de digestie weergeeft met den tijd.

De gestippelde lijn geeft het beloop weer, wanneer, berekend uit de digestie van de eerste bepaling, de vertering evenredig was met den tijd.

In Fig. I*b*—VI*b* is 1^0 de pepsine-concentratie op de ordinaat en 2^0 op de abscis de digestie in mM. afgezet.

We krijgen derhalve voor de verschillende tijden telkens een kromme, die de vertering weergeeft voor de verschillende hoeveelheden pepsine.

Hier zijn de gestippelde lijnen geconstrueerd uit de gevonden digestie van de zwakste pepsine-concentratie naar den regel van *Borissow.*

We zien in Fig. I*a*:

Er is, behalve bij I, steeds meer verteerd, dan wanneer de digestie evenredig was aan den tijd. Toch bestaat er later neiging, om minder te gaan verteren, als uitdrukking waarvan de lijnen zich buigen naar de ordinaat.

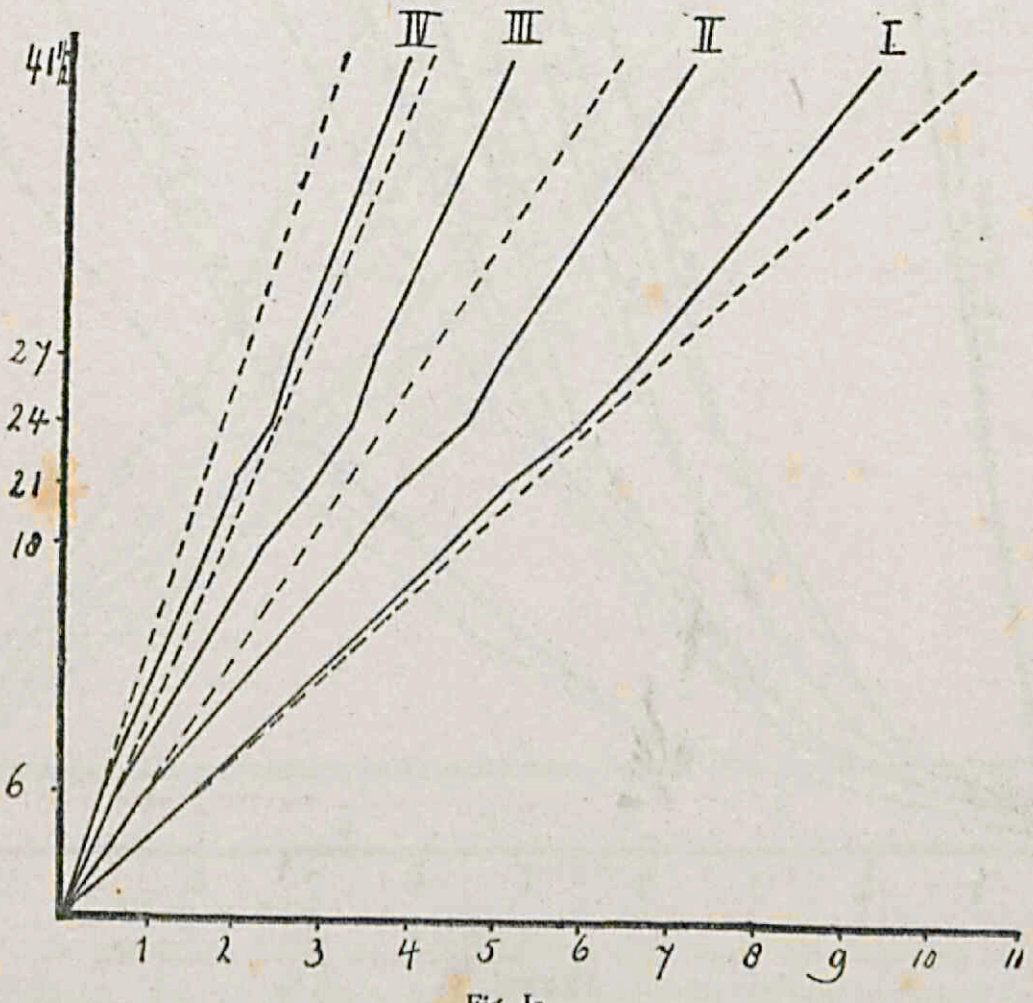

Fig. Ia.

We zien in Fig. I*b* (pag. 86):

Vooral door de sterkere oplossingen van enzym wordt minder verteerd, dan men volgens den regel van *Borissow* uit de vertering van de zwakste pepsine-concentratie zou mogen verwachten.

Voor de zwakkere pepsine-oplossingen is de afwijking, vooral in den eersten tijd, zeer klein. Na 6 uur heeft I echter meer verteerd.

Proef 2

I 10 cM³ 0.02 % oplossing van varkenspepsine; 2 × verdund.
II id. 0.02 % „ „ „ 4 × „
III id. 0.02 % „ „ „ 8 × „
IV id. 0.02 % „ „ „ 16 × „

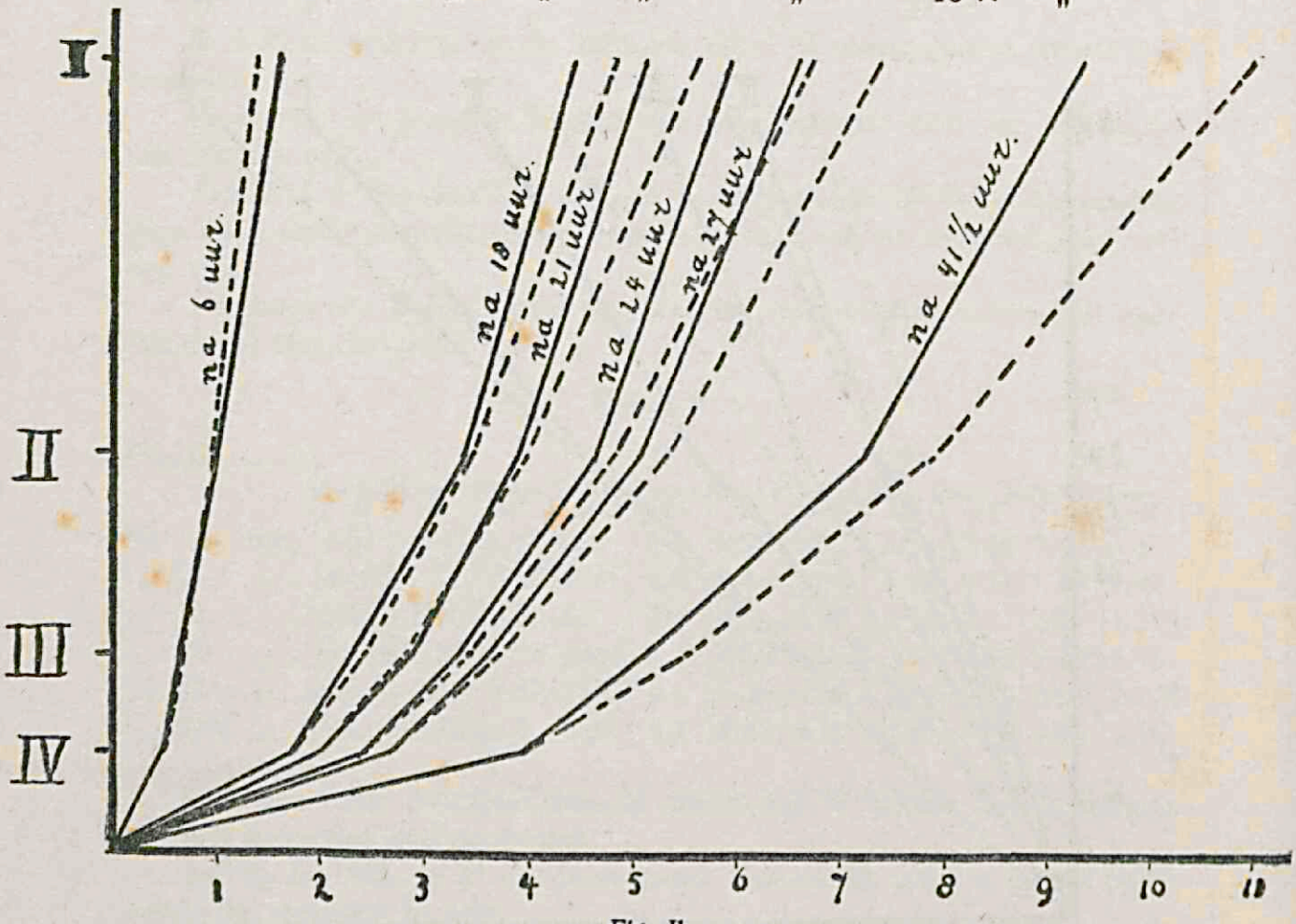

Fig. Ib.

Tabel II

Pepsine . .	I.			II.			III.			IV.	
	Gevond. mM	Berek. 1. mM	Berek. 2. mM	Gevond. mM	Berek. 1. mM	Berek. 2. mM	Gevond. mM	Berek. 1. mM	Berek. 2. mM	Gevond. mM	Berek. 1. mM
Na 3 uur .	0.95	0.95	1.302	0.765	0.765	0.93	0.615	0.615	0.651	0.465	0.465
„ 5 „ .	1.60	1.58	2.10	1.20	1.28	1.50	0.90	1.03	1.05	0.75	0.77
„ 7 „ .	2.25	2.21	3.22	1.77	1.78	2.30	1.54	1.43	1.61	1.15	1.08
„ 9 „ .	2.70	2.85	4.00	2.35	2.30	2.87	1.95	1.845	2.00	1.434	1.395
„ 11 „ .	3.20	3.50	5.34	2.90	2.80	3.84	2.335	2.26	2.67	1.92	1.71
„ 24 „ .	6.40	7.80	9.24	5.70	6.12	6.60	4.50	4.9	4.62	3.30	3.7

Fig. II*a*:

Ook nu zien wij, dat de krommen, hier na 11 uur digestie, steiler loopen, als uitdrukking van de vermindering der digestie.

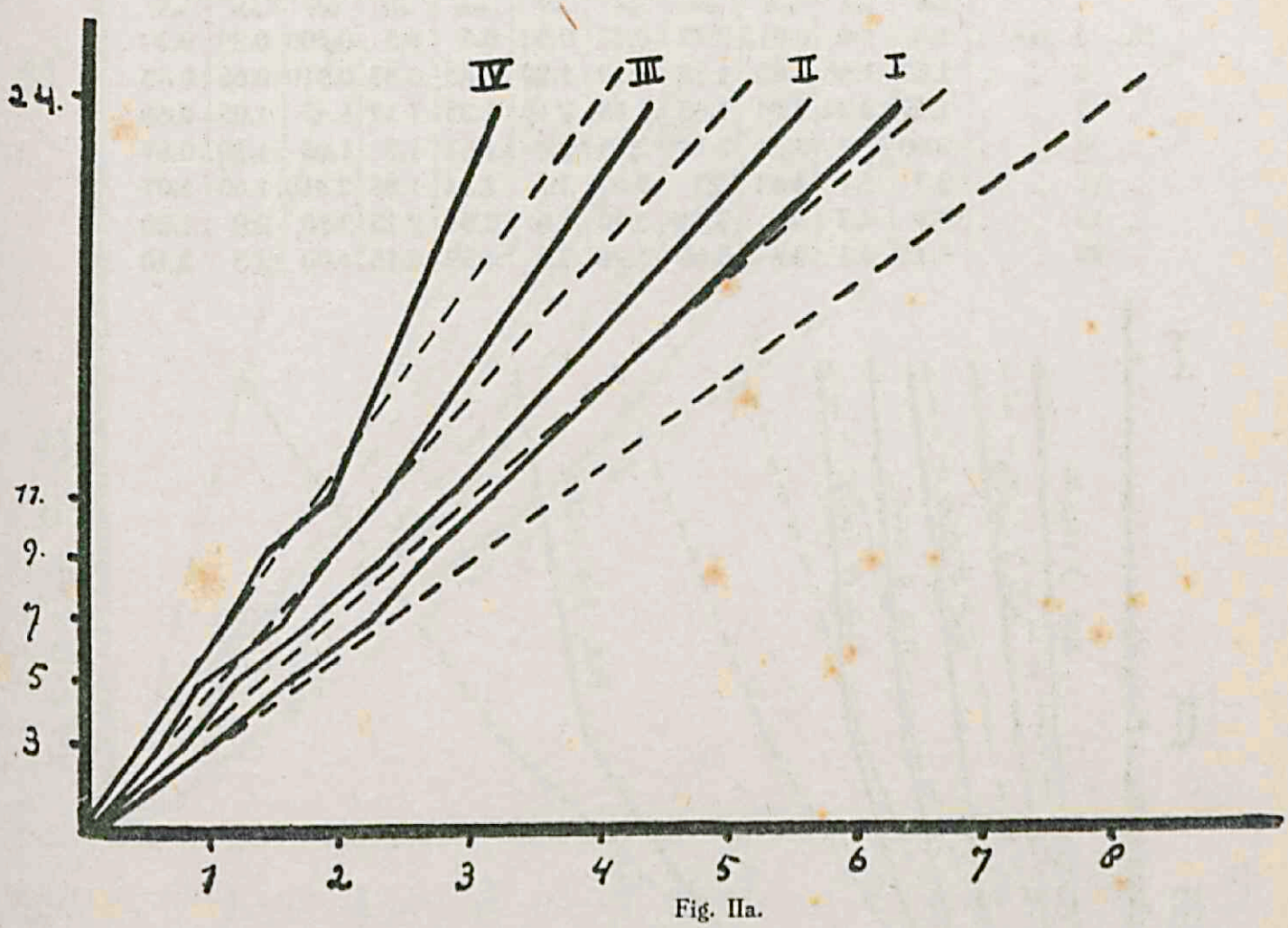

Fig. IIa.

Fig. II*b* (pag. 88):

In alle lijnen komt de afwijking van den regel van *Borissow* tot uitdrukking, dat de sterkere pepsine-concentraties minder verteerd hebben in vergelijking met de zwakste oplossing van pepsine.

Proef 3

I	10 cM³	0.02 %	oplossing	van	varkenspepsine:	2 ×	verdund.
II	id.	0.02 %	„	„	„	4 ×	„
III	id.	0.02 %	„	„	„	8 ×	„
IV	id.	0.02 %	„	„	„	16 ×	„

Tabel III

Pepsine . .	I.			II.			III.			IV.	
	Gevond. mM	Berek. 1. mM	Berek. 2. mM	Gevond. mM.	Berek. 1. mM	Berek. 2. mM	Gevond. mM	Berek. 1. mM	Berek. 2. mM	Gevond. mM	Berek. 1 mM
Na 3 uur .	1.0	1.0	0.812	0.72	0.72	0.58	0.5	0.5	0.406	0.29	0.29
„ 5 „ .	1.57	1.66	1.82	1.35	1.19	1.30	0.85	0.83	0.910	0.65	0.48
„ 7 „ .	1.99	2.34	2.94	1.65	1.68	2.10	1.25	1.17	1.47	1.05	0.68
„ 9 „ .	2.60	3.0	3.36	2.17	2.16	2.4	1.62	1.5	1.68	1.20	0.87
„ 11 „ .	3.3	3.7	4.62	2.7	2.67	3.3	2.14	1.85	2.310	1.65	1.07
„ 13 „ .	3.9	4.3	5.6	3.42	3.10	4.0	2.54	2.15	2.80	2.0	1.25
„ 25 „ .	6.45	8.3	9.8	5.65	5.98	7.0	4.59	4.15	4.90	3.5	2.40

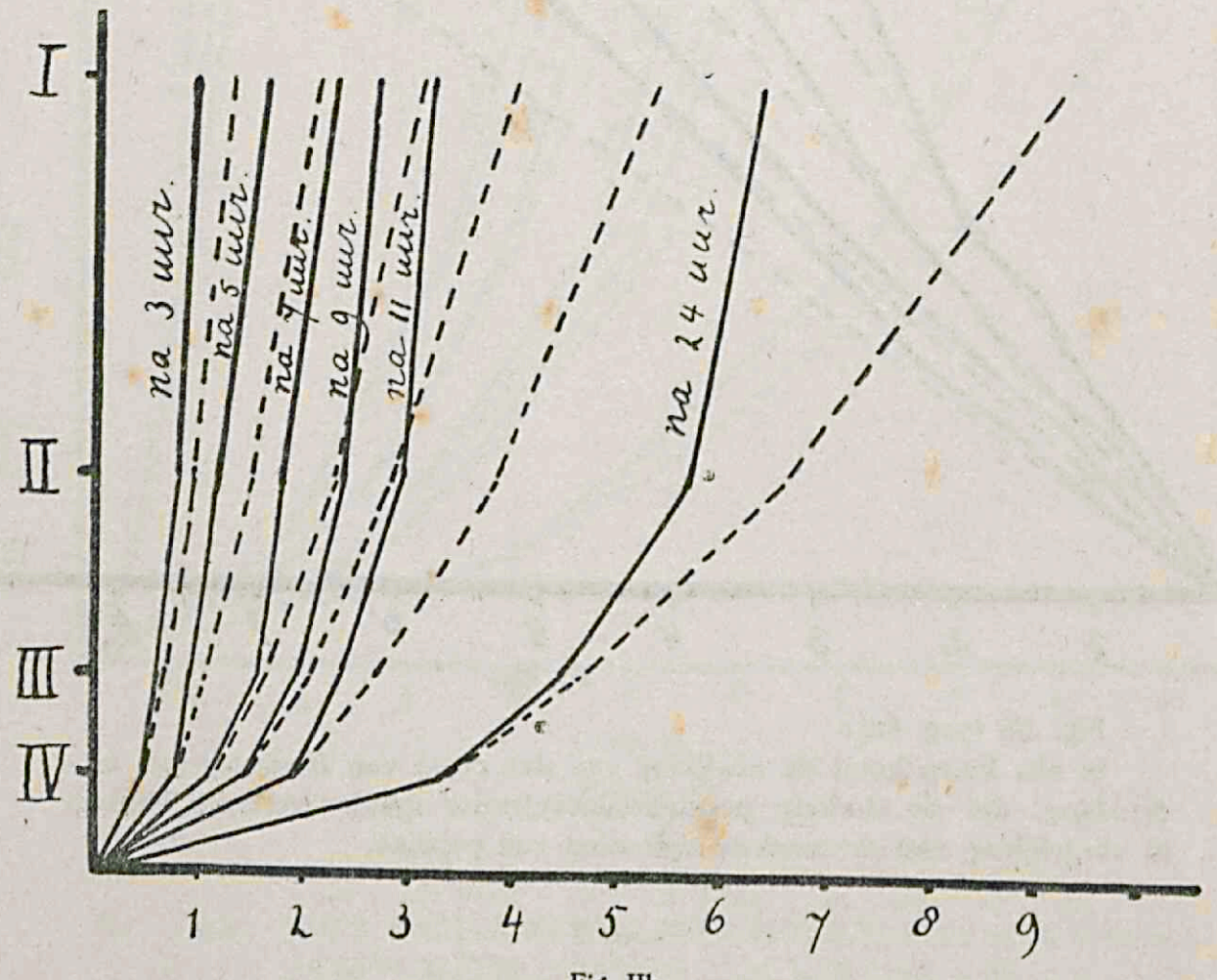

Fig. IIb.

We zien in Fig. IIIa (pag. 89):

De lijnen buigen na 13 uur alle vier naar de ordinaat; de digestie is derhalve na dien tijd aan het verminderen.

Vooral bij de zwakkere pepsine-concentraties zien we in 't midden iets meer verteerd, dan in 't begin.

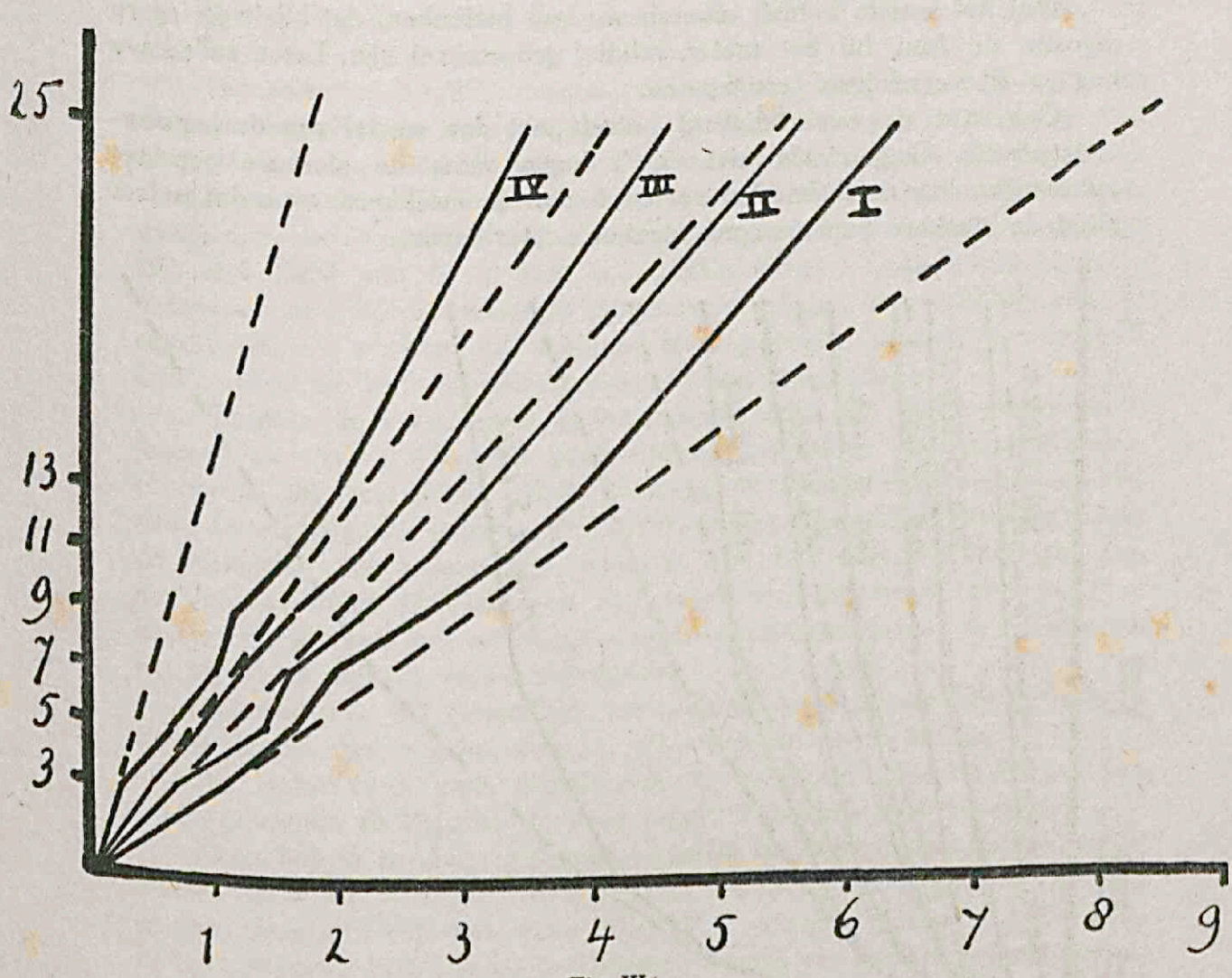

Fig. IIIa.

In Fig. IIIb (pag. 90):

Na 3 uur hebben I, II en III meer verteerd, dan men zou verwachten uit IV naar den regel van *Borissow*.

Later hebben de sterkere pepsine-oplossingen steeds minder verteerd.

We vinden dus als resultaat van onze proeven, dat bij de methode van *Mett* de regel van *Borissow* zoo ongeveer opgaat, maar dat, zoowel wat den tijd betreft, als wat de pepsine-concentratie aangaat er een afwijking bestaat.

We zagen toch, dat zoowel de zwakkere pepsineconcentraties als de sterkere na eenigen tijd minder gaan verteren, dan men naar de evenredigheid met den tijd zou verwachten. Bovendien zagen we, vooral bij de

zwakkere pepsine-oplossingen, dat in het begin minder verteerd werd, daarna iets meer, na nog langer tijd weer minder.

Wat het laatste betreft moeten we wel bedenken, dat bij de geringere digestie de fout bij het meten relatief grooter zal zijn. Later zullen we nog op dit verschijnsel terugkomen.

Ook wat de evenredigheid betreft met den wortel van de pepsine-concentratie, zagen we dat in 't begin soms de sterkere pepsine-oplossingen iets meer hadden verteerd, dan de zwakkere, maar dat anders altijd de sterkere pepsine-concentraties achterbleven.

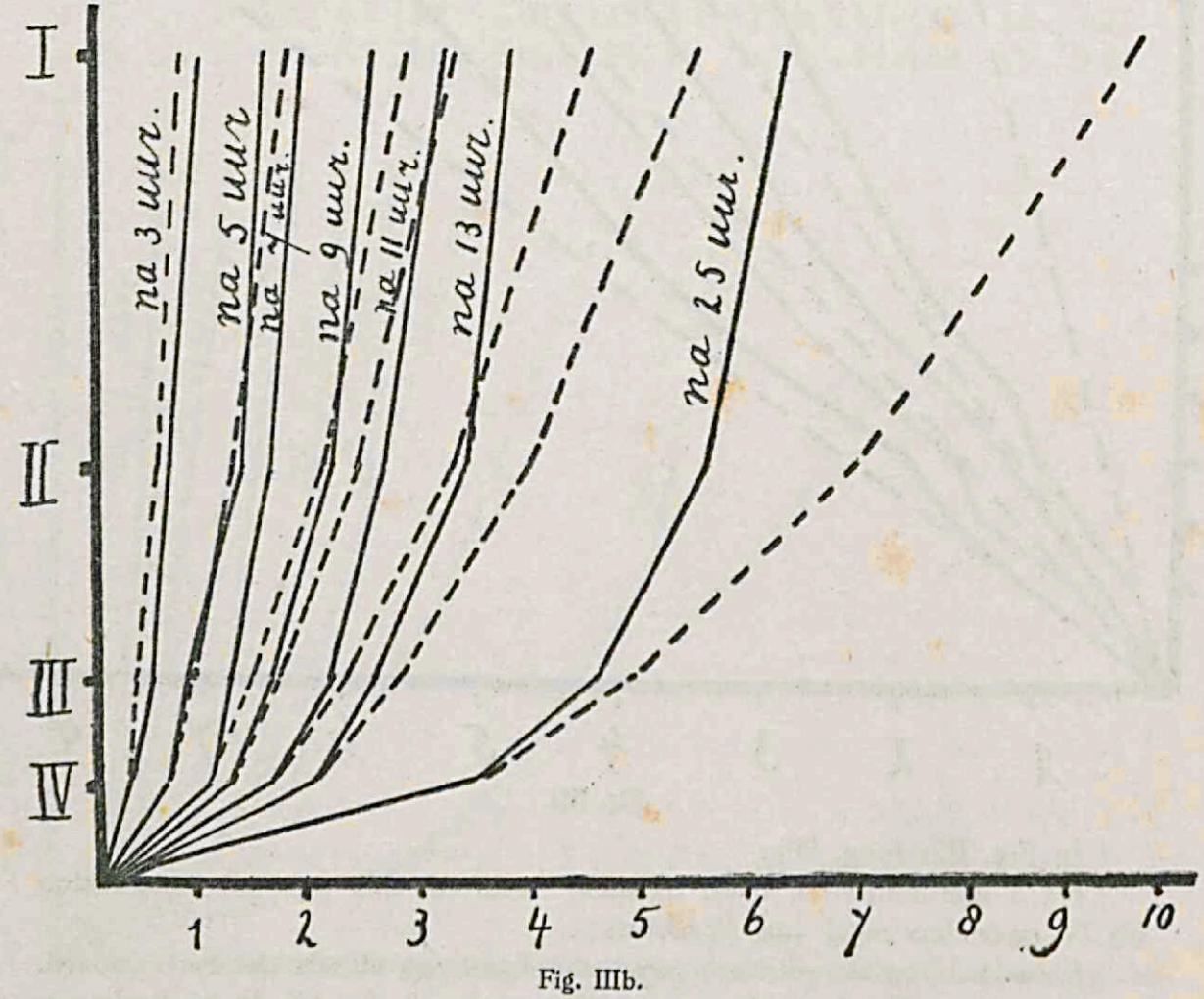

Fig. IIIb.

Bij de bespreking van de pepsine-regels heb ik er al op gewezen, dat verschillende onderzoekers dergelijke afwijkingen van den regel van *Borissow* hadden gevonden. Zoo zag *Ssamojloff* [1]) evenredigheid met den tijd bij een digestietijd beneden 10 uur en *Linossier* [2]) bij een digestie beneden

1) *Ssamojloff*: l. c. 2) *Linossier*: l. c.

5 à 6 mM. *Cobb* [1]) besloot uit zijn proeven, dat een oplossing van pepsine, die in 24 uur 2.5 mM eiwit kon verteren, van $2^1/_2$ tot 5 mM het buisje van *Mett* sneller digereerde, dan van 0—$2^1/_2$ mM of van 5—$7^1/_2$ mM. Hij sprak van een „initial delay".

Nirenstein en Schiff [2]) vonden, dat de afwijking van den regel van *Borissow* begon voor oplossingen van pepsine boven een digestie van 3.9 mM (aan één uiteinde van een buisje van *Mett*) na 24 uur bij 37° C.

Ik zou echter in mijn proeven niet zulke grenzen durven trekken, waarbuiten de afwijkingen van den regel beginnen. Wel zou ik geneigd zijn met *Cobb* aan te nemen een „initial delay". Deze kwam in mijne proeven vooral bij de zwakkere pepsine-oplossingen te voorschijn en zóó regelmatig, dat we haar wel niet aan metingsfouten kunnen toeschrijven. Later zullen we haar bij enkele proeven nog ontmoeten.

Wanneer de vertering in de buisjes van *Mett* zoo rustig plaats heeft, kunnen we ons a priori zeer goed voorstellen, dat de gevormde digestie-producten uit het glazen buisje weinig of niet zullen afstroomen en dat deze de werking der pepsine zoodoende zullen hinderen. Misschien dat dit de verklaring zou kunnen zijn, waarom juist de sterkere oplossingen van pepsine het meest afwijken van den regel van *Borissow*. Hier worden immers de grootste hoeveelheden digestie-producten gevormd, die dus ook het meest de digestie zullen tegengaan.

Daarom was het gewenscht den invloed der stagneerende producten op de digestie na te gaan, door nl. de stagnatie op te heffen.

Dit laatste was zeer gemakkelijk te bereiken, door de buisjes van *Mett* gedurende de digestie door de digestievloeistoffen te bewegen.

Eerst heb ik proeven genomen, waarbij de digestievloeistoffen met de buisjes van *Mett* in fleschjes waren gedaan, die met kurken gesloten werden en dan door een bak met water van 37° C. werden geroteerd. Later deed ik mijn proeven in wijde reageerbuizen, waarin de verteringsmengsels en de buisjes van *Mett* werden gebracht. Deze werden dan gekurkt en tijdens de vertering in schommelende beweging gehouden, in een bak met water van 37° C.

Bij de proeven met rotatie zag ik menigmaal op onverklaarbare wijze de werking van de pepsine afnemen. Hoewel de kurken, waarmede de fleschjes gesloten waren, tegen het adsorbeeren van pepsine bedekt waren met een laag paraffine, geloof ik, dat toch menigmaal, doordat barstjes in de paraffinelaag waren ontstaan, de kurken pepsine hebben geadsorbeerd en zoo pepsine aan de digereerende werking hebben onttrokken.

1) *Cobb*: l. c.
2) *Nirenstein e. Schiff*: l. c.

Daarom deed ik later mijn proeven liever met schommelende beweging, zoodat pepsine niet met de kurken in aanraking kwam.

Wanneer we nagaan, wie bij de methode van *Mett* het moment „beweging" heeft gebruikt, dan vinden we o.a. *Schorlemmer.* [1]) Hij wilde nagaan met de methode van *Mett* den invloed van beweging op de digestie, om zoodoende de natuur zooveel mogelijk getrouw te blijven, daar toch het voedsel tijdens de digestie in de maag voortdurend in beweging is. Hij schudde door een toestel, die gedreven werd door een waterturbine, de verteringsvloeistoffen. Hij vond, dat de digestie in de buisjes van *Mett* door het schudden versneld werd.

Jastrowitz [2]) onderzocht den invloed van aminozuren op de vertering van eiwitstoffen door pepsine. Hij gebruikte eveneens de methode van *Mett*, maar hij ondervond, dat vele buisjes van *Mett* onbruikbaar waren, daar de grens tusschen opgelost en niet-opgelost eiwit, òf scheef òf onduidelijk was, zoodat de vertering in mM niet was te bepalen.

Dit schreef hij toe aan allerlei producten (o.a. de aminozuren), die in de digestie-vloeistoffen zouden bezinken en storend zouden werken op de digestie in de buisjes van *Mett.* Daarom wilde hij die producten gelijkmatig door de vloeistoffen verdeelen. Dit deed hij, door met behulp van een toestel van *Siegfried* de buisjes van *Mett* voortdurend tijdens de digestie in de vloeistoffen op en neer te bewegen. Hij versneldt, dat hij eerst 60 % onbruikbare buisjes van *Mett* had, bij de beweging echter nog 18 %. Ook hij vond, dat de vertering door de beweging versneld wordt.

Daartegenover staat de mededeeling van *van Spanje* [3]), dat in de buisjes van *Mett* door beweging de digestie niet wordt versneld, maar dat wel een vierkant stukje eiwit er sneller door verteerd wordt. Ik wil daarom allereerst een eenvoudige proef vermelden, waarin duidelijk de versnellende invloed van beweging op de digestie in buisjes van *Mett* uitkomt.

Proef 4

A : 10 cM³ 0.04 % oplossing van varkenspepsine.
B : id. id. " " "

A liet ik rustig hangen in den waterthermostaat, B. daarentegen werd geroteerd tijdens de digestie.

---

1) *Schorlemmer* : l. c.

2) *Jastrowitz* : die Hemmung der peptischen Verdauung, etc. Biochem. Zeitschr. Bd. II. 1907. S. 157.

3) *van Spanje* : l. c.

A: in rust { na 4 uur: 0.57 mM. „ 8 uur: 1.23 „

B: met rotatie { na 4 uur: 0.88 „ „ 8 uur: 1.90 „

Ik zal nu dus eenige proeven weergeven, om den gang der vertering te bestudeeren, wanneer de stagnatie der digestieproducten is uitgeschakeld.

I: 10 cM³ 0.02 % oplossing van varkenspepsine: onverdund
II: „ 0.02 % „ „ „ 2 × verdund.
III: „ 0.02 % „ „ „ 4 × „
IV: „ 0.02 % „ „ „ 8 × „

Digestie bij 37° C. bij rotatie.

Tabel IV

Pepsine . .	I.			II.			III.			IV.	
	Gevond. mM	Berek. 1. mM	Berek. 2. mM	Gevond. mM	Berek. 1. mM	Berek. 2. mM	Gevond. mM	Berek. 1. mM	Berek 2. mM	Gevond. mM	Berek. 1. mM
Na 4 uur .	3.0	3.0	2.96	2.43	2.43	2.12	1.4	1.4	1.48	1.06	1.06
„ 6 „ .	3.8	4.5	5.04	3.0	3.65	3.60	2.2	2.1	2.52	1.80	1.59
„ 8 „ .	5.0	6.0	6.30	3.85	4.86	4.50	2.7	2.8	3.15	2.25	2.12
„ 10 „ .	5.8	7.5	7.14	4.45	6.08	5.10	3.38	3.5	3.57	2.55	2.65

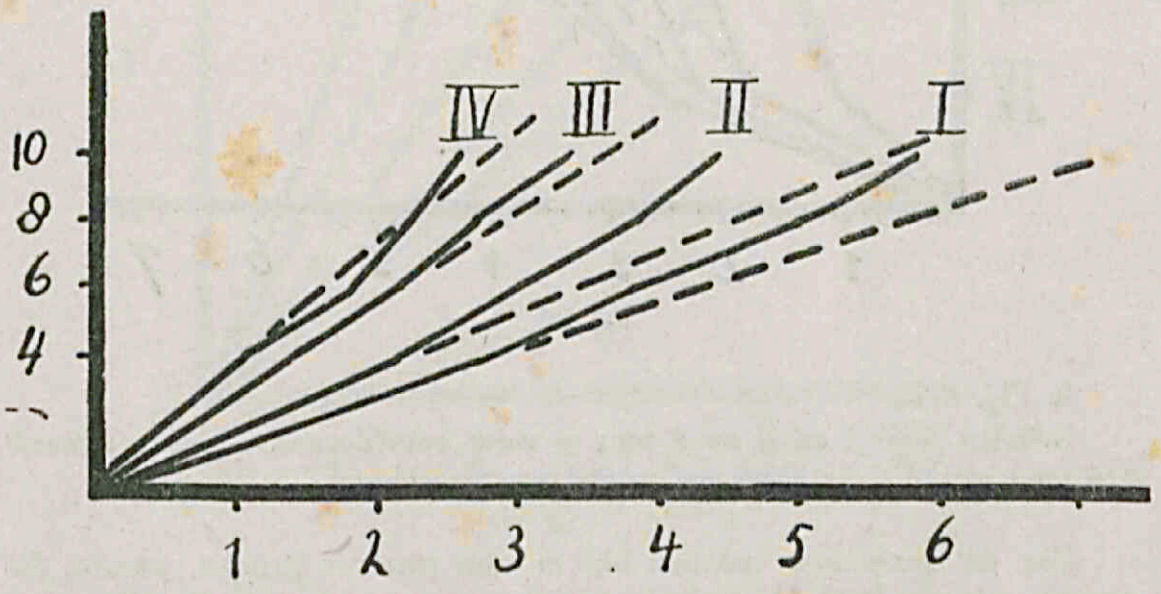

Fig. IVa.

In Fig. IV*a* zien we:

Bij III en IV loopt na 4 uur de curve eerst iets minder steil dan in 't begin, maar later neemt de vertering weer af.

I en II hebben voortdurend minder verteerd, dan „berekend" uit de eerste 4 uur.

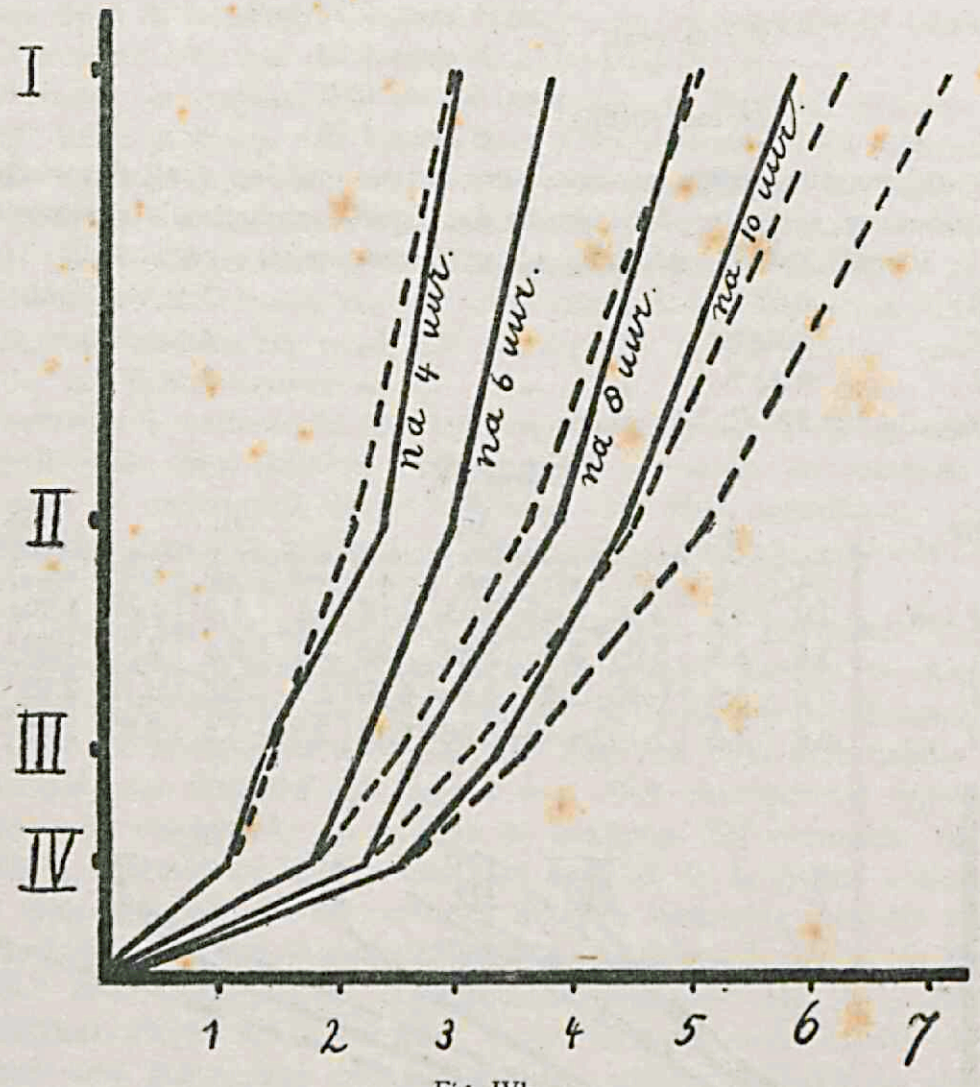

Fig. IVb.

In Fig. IV*b*:

Behalve door I en II na 4 uur, is weer voortdurend minder verteerd dan men uit IV naar *Borissow's* regel zou berekenen.

Om de genoemde redenen heb ik later proeven gedaan, waarbij de digestie schommelend plaats had.

Proef 6

Ik nam maagsap van den fistelhond. Daar dit een aciditeit had van ± 0.5 %, verdunde ik het eerst 2.5 maal met aqua destillata, verder met 0.2 % HCl.

I : 10 cM³ maagsap 2.5 × verdund.
II : „ „ 5.0 × „
III : „ „ 10 × „
IV : „ „ 20 × „
V : „ „ 40 × „

Tabel V

Pepsine .	I.			II.			III.			IV.			V.	
	Gevond. mM.	Berek. 1. mM	Berek. 2. mM	Gevond. mM	Berek. 1. mM	Berek. 2. mM	Gevond. mM	Berek. 1. mM	Berek. 2. mM	Gevond. mM	Berek. 1. mM	Berek. 2. mM	Gevond. mM.	Berek. 1. mM
Na 5 uur.	3.07	3.07	3.72	2.48	2.48	2.61	1.87	1.87	1.86	1.3	1.3	1.302	0.93	0.93
„ 8½ „	4.82	5.22	7.00	3.92	4.22	4.90	3.03	3.18	3.5	2.28	2.21	2.45	1.75	1.59

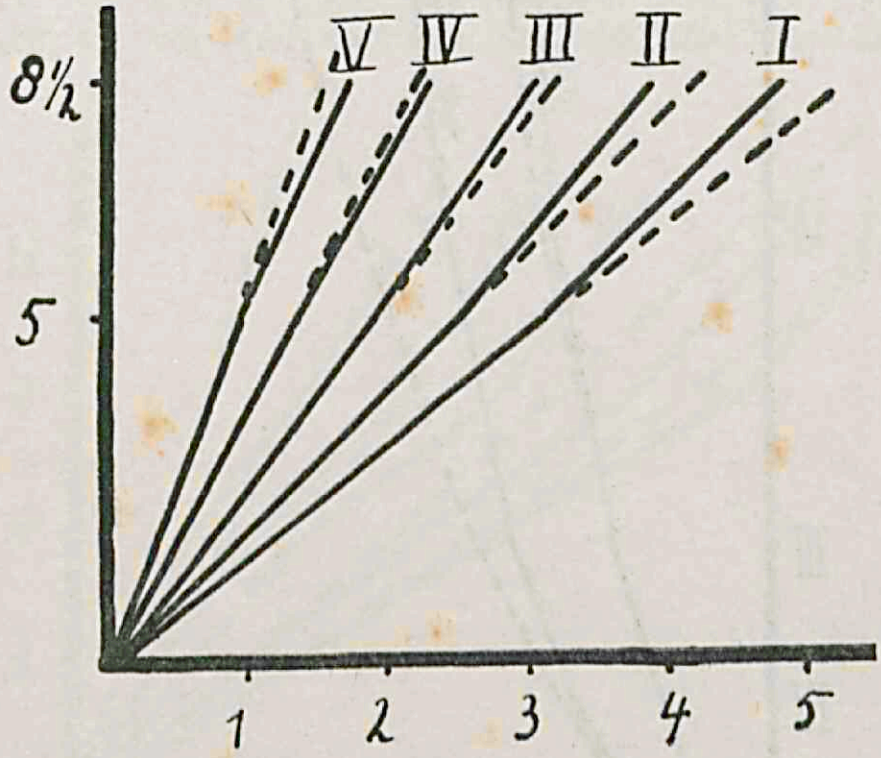

Fig. Va.

We zien in Fig. V*a*:

IV en V hebben na 8½ uur iets meer verteerd, de overige iets minder, dan men zou berekenen uit de vertering na 5 uur.

Fig. V*b*. (pag. 96)

De sterkere pepsineoplossingen hebben weer minder verteerd, dan men zou berekenen naar de wortelverhouding uit V.

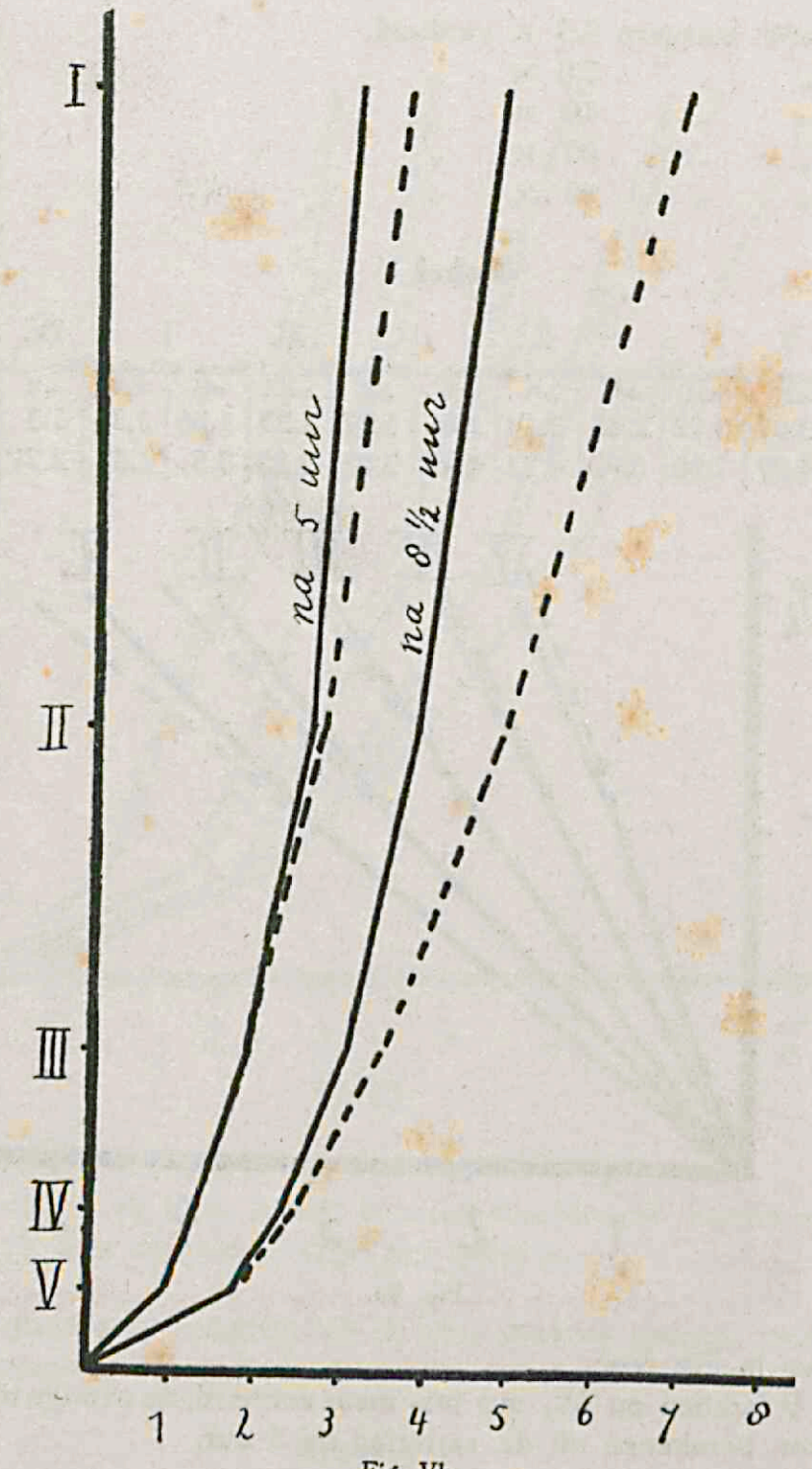

Fig. Vb.

Proef 7

Met maagsap van den filstelhond maakte ik weer, evenals in de vorige proef, vijf verdunningen :

I : 10 cM³ maagsap 2.5 × verdund.
II : " " 5.0 × "
III : " " 10.0 × "
IV : " " 20.0 × "
V : " " 40.0 × "

Tabel VI

Pepsine . .	I.			II.			III.			VI.			V.	
	Gevond. mM	Berek. 1. mM	Berek. 2. mM	Gevond. mM	Berek. 1. mM	Berek. 2. mM	Gevond. mM	Berek. 1. mM	Berek. 2. mM	Gevond mM	Berek. 1 mM	Berek. 2. mM	Gevond. mM	Berek. 1. mM
Na 3 uur.	1.5	1.5	1.32	1.18	1.18	0.92	0.77	0.77	0.66	0.58	0.58	0.46	0.33	0.33
" 6 " .	3.07	3.0	3.20	2.47	2.36	2.24	1.63	1.54	1.60	1.27	1.16	1.12	0.80	0.66
" 9 " .	4.7	4.5	6.48	4.0	3.54	4.54	3.00	2.21	3.24	2.25	1.74	2.27	1.62	0.99
" 12 " .	5.58	6.0	9.20	4.87	4.72	6.44	3.78	3.08	4.60	3.03	2.32	3.22	2.30	1.32

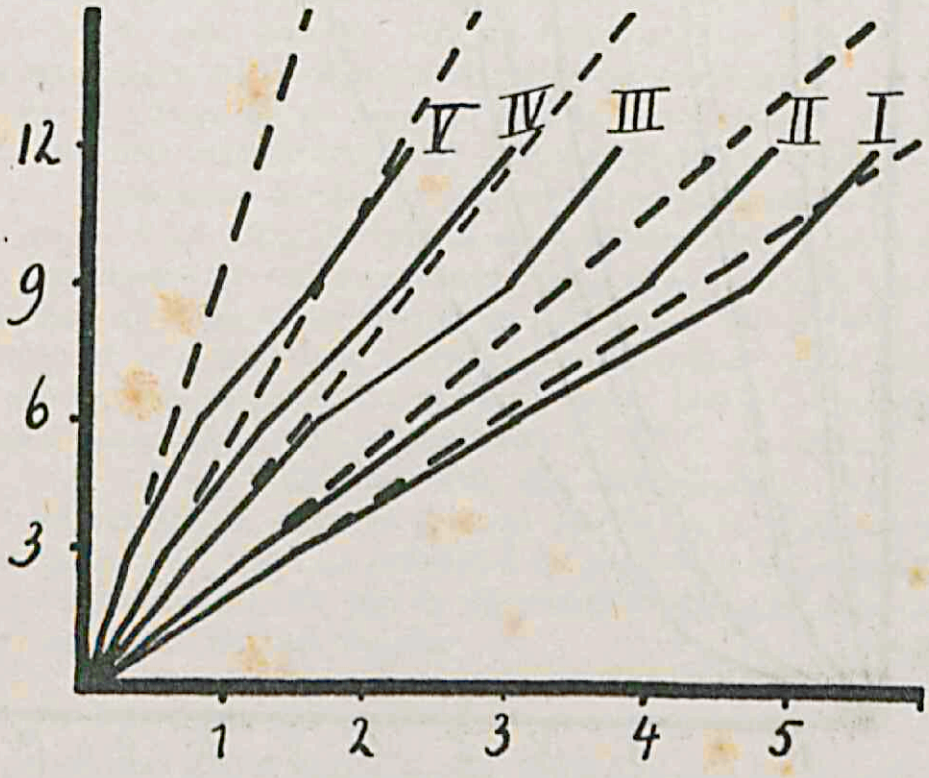

Fig. VIa.

In Fig. VI*a* is steeds, behalve voor I na 12 uur, meer verteerd, dan men zou berekenen uit de digestie na 3 uur. De vijf lijnen loopen echter na 9 uur steiler, dan van 6—9 uur; derhalve is de vertering toch weer aan het afnemen.

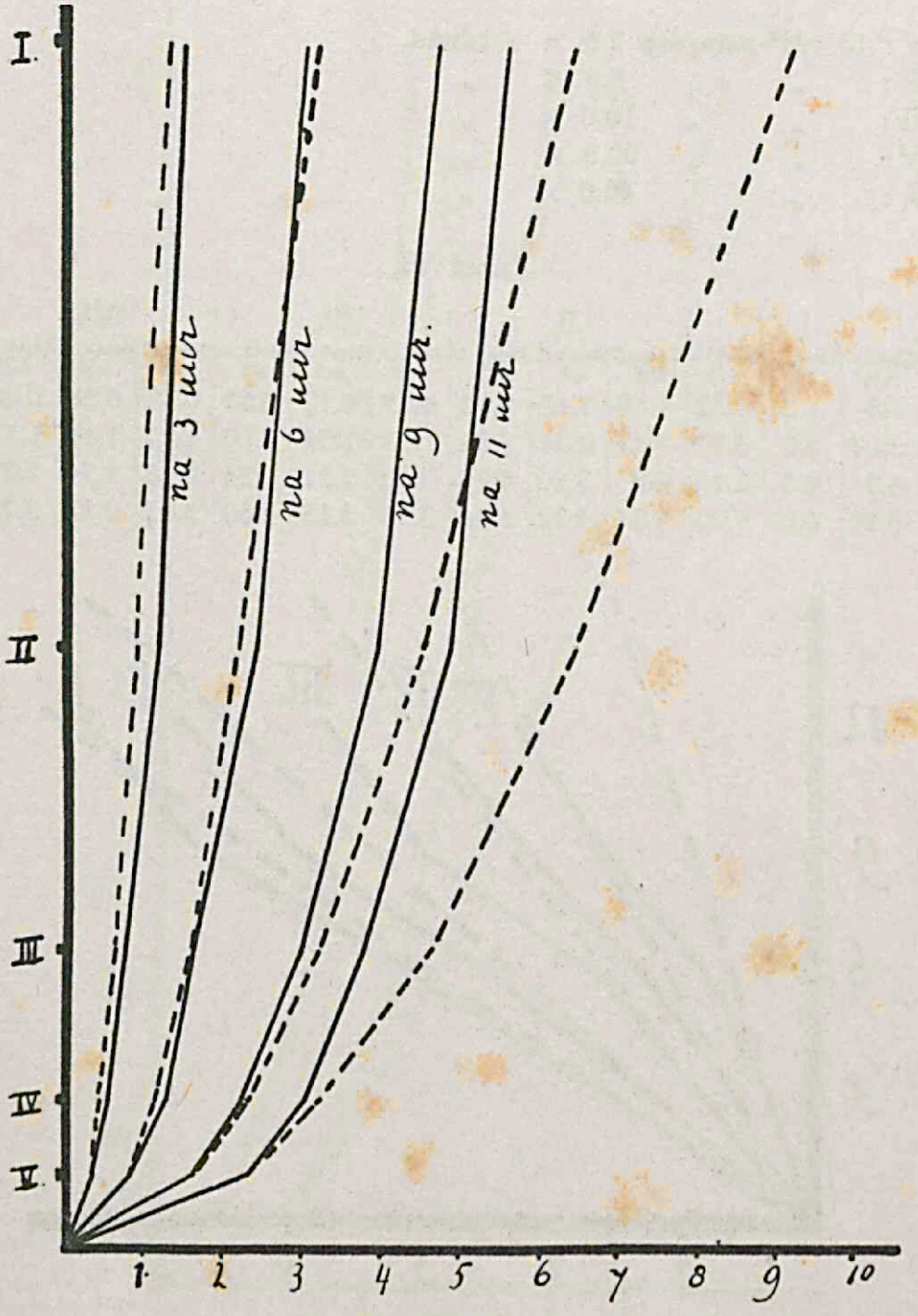

Fig. VIb.

In Fig. VI*b*:

Behalve na 3 uur, en ten deele na 6 uur, hebben de sterkere pepsine-concentraties weer minder verteerd, dan men naar den regel van *Borissow* uit V zou berekenen.

We komen derhalve tot de conclusie, dat bij de proeven met beweging dezelfde afwijkingen van den regel van *Borissow* voorkomen, als bij de proeven in rust. Zij zijn dus niet het gevolg van de stagnatie der digestie-producten.

We zouden ons nu kunnen voorstellen, dat die afwijkingen hierdoor ontstonden, dat pepsine of zoutzuur of misschien beiden, doordat zij gebonden werden door de splitsingsproducten van het eiwit, van de digestie werden uitgeschakeld. Daar bij de sterkere pepsine-oplossingen ook meer digestie-producten worden gevormd, zouden zij juist het sterkst de afwijkingen van den regel van *Borissow* vertoonen en eveneens het eerst. Bovendien ware het denkbaar, dat de sterkere pepsine-oplossingen ook het meest van den invloed van de temperatuur van 37° C. bij zure reactie hadden te lijden. Menigmaal is immers aangetoond, dat een pepsine-oplossing, langen tijd bij 37° C. bewaard, achteruitgaat in digereerend vermogen. Wellicht dat in mijn proeven ook bij korteren duur van digestie de pepsine-oplossingen achteruitgingen in verterend vermogen.

Ik deed daarom eenige proeven, waarbij ik oplossingen van pepsine nam van dezelfde concentratie, maar met verschillende hoeveelheden vloeistof. Door schommelen werden de digestie-producten gelijkmatig door de vloeistoffen verdeeld. Ging nu inderdaad de pepsinewerking achteruit door binding van pepsine of zoutzuur, of van beiden, door de digestie-producten, dan moesten de buisjes van *Mett* in de oplossingen van pepsine, waarin meer vloeistof aanwezig was, meer verteerd worden, omdat hier dan relatief minder digestie-producten aanwezig waren. Liet ik bovendien eenige oplossingen van pepsine mede schommelen bij 37° C. en bracht ik hierin na een paar uur pas buisjes van *Mett*, dan moesten dezen weer minder verteerd worden in een volgende periode, dan de eerste buisjes van *Mett* in de vorige periode, wanneer inderdaad de pepsine reeds gedurende een paar uur merkbaar achteruit gaat in digereerend vermogen door de temperatuur van 37° C. bij zure reactie.

Proef 8

I } in elk 20 cM³ 0.04 % oplossing van hondenpepsine en 30 cM³ 0.2 %
II } zoutzuur.
III } in elk 2 cM³ 0.04 % oplossing van hondenpepsine en 3 cM³ 0.2 %
IV } zoutzuur.

In I en III bracht ik in 't begin der proef 2 buisjes van *Mett*, meette deze na een digestie van 3 u. 50 min. en deed daarna weer dezelfde buisjes in de digestievloeistoffen.

In II en IV bracht ik, na gedurende 3 u. 50 min. bij 37° C. te hebben laten schommelen, 2 buisjes van *Mett* en meette deze na 7 u. 40 min. tegelijk met de buisjes in I en III:

Tabel VII

Pepsine:	I.	II.	III.	IV.
na 3 u. 50 min.:	1.82 mM	—	1.80 mM	—
„ 7 u. 40 „ :	3.67 „	1.82 mM	3.70 „	1.85 mM

Conclusie: We vonden praktisch geen verschillen tusschen I en III, dus geen invloed van de verschillende hoeveelheid digestievloestof, en evenmin tusschen I na 3 u. 50 min. en II na 7 u. 40 min., resp. tusschen III na 3 u. 50 min. en IV na 7 u. 40. We zien, dat I en III na 7 u. 40 min. iets meer verteerd hebben, dan men zou berekenen uit de digestie na 3 u. 50 min. (nl. 2×1.82 mM. $= 3.64$ mM [3.67]; 2×1.80 „ $= 3.60$ „ [3.70])

Nog een dergelijke proef wil ik mededeelen:

Proef 9

II, III: in elk 10 cM³ maagsap van den hond + 40 cM³ 0.2 % zoutzuur. In I 2 buisjes van *Mett* aan 't begin der proef; in II id. na 3 uur; in III id. na 6 uur.

IV, V, VI: in elk 1 cM² maagsap en 4 cM³ 0.2 % HCl. Verder IV als I, V als II, VI als III.

Ik bepaalde de digestie, nadat alle vloeistoffen gedurende 9 uur bij 37° C. geschommeld hadden.

Tabel VIII

Pepsine:	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.
na 9 uur	4.88 mM	—	—	4.82 mM	—	—
„ 6 „	—	3.32 mM	—	—	3.27 mM	—
„ 3 „	—	—	1.44 mM	—	—	1.43 mM
per uur.	0.54 mM	0.55 mM	0.48 „	0.54 mM	0.55 mM	0.48 „

Conclusie: we vonden geen verschil bij 't gebruik van de 10-voudige hoeveelheid verteringsvloeistof. Ook hier zagen we, dat in 't begin der digestie (bij III en VI) minder verteerd was per uur, dan later.

Evenmin zagen we de pepsinewerking verminderen door 3, resp. 6 uur bij 37° C.

Proef 10

I, II, III: in elk 5 cM³ maagsap van den hond + 5 cM³ aqua destillata. In I 2 buisjes van *Mett*; in II id. na 3 uur, in III id. na 6 uur schommelen bij 37° C.

Tabel IX

Pepsine . .	I.	II.	III.
Na 3 uur .	2.18 mM	—	—
„ 6 „ .	4.05 „	2.17 mM	—
„ 9 „ .	6.25 „	4.13 „	2.20 mM
„ 12 „ .	8.05 „	6.15 „	4.08 „

Conclusie: Ook in deze proef zagen we dus praktisch geen verschillen, wanneer de pepsine eerst 3 of 6 uur op 37° C. verwarmd was.

Hier zagen we weer vermindering van de digestie bij berekening uit de vertering na 3 uur: immers:

Pepsine . .	I.	II.	III.
Na 3 uur .	*2.18* mM	—	—
„ 6 „ .	4.36 „	*2.17* mM	—
„ 9 „ .	6.54 „	4.34 „	*2.20* mM
„ 12 „ .	8.72 „	6.51 „	4.40 „

Nemen we echter zwakkere digestievloeistoffen, dan zien we dat aan 't begin minder verteerd is, bv.

Proef 11

In elk : 10 cM³ maagsap, dat met 0.2 % HCl 15-maal verdund was. Verder is de inrichting als van de vorige proef: digestie schommelend:

In de volgende tabel zijn de uitkomsten weergegeven. De getallen tusschen haakjes zijn berekend uit de digestie voor I na 3 uur, voor II na 6 uur, voor III na 9 uur.

Tabel XI

Pepsine	I.	II.	III.
Na 3 uur .	0.75 mM	—	—
„ 6 „ .	1.88 „ (1.50)	0.78 mM	—
„ 9 „ .	2.98 „ (2.25)	1.85 „ (1.56)	0.79 mM
„ 11⅓ „ .	3.78 „ (2.83)	2.87 „ (2.17)	1.75 „ (1.39)

We hebben derhalve duidelijk gezien, dat zoowel bij proeven in rust als bij beweging dezelfde afwijkingen van den regel van *Borissow* bestaan, dat nl. *α wat betreft den tijd:* de zwakkere en de sterkere pepsine-oplossingen minder gaan verteren, dan men uit evenredigheid met den tijd zou verwachten; dat bovendien de zwakkere oplossingen van pepsine (hiervoor komt het tenminste het meeste voor den dag) in 't begin een periode hebben, dat ze minder verteren, dan in een later stadium. *β wat de pepsine-concentratie betreft:* dat, behalve in 't begin der digestie, de sterkere pepsine-concentraties bij langer digestieduur steeds meer achterblijven, dan men naar de evenredigheid met den kwadraatwortel van de pepsine-concentratie uit de zwakkere oplossingen van pepsine zou berekenen.

We zagen, dat de digestie-producten wel bij proeven in rust de vertering belemmeren, maar dat de afwijkingen van den regel van *Borissow* bij het verwijderen der stagneerende digestie-producten bleven bestaan.

In mijn proeven kon ik bij de gekozen proefduur geen schadelijken of liever remmenden invloed van de digestie-producten op pepsine of zoutzuur ontdekken, noch van de temperatuur van 37° C. op het enzym. Ik wil er op wijzen, dat die schadelijke invloeden zeer zeker wel bestaan zullen, maar dat onder de gegeven proefvoorwaarden het effect ervan zóó gering zal zijn, dat bij de methode van *Mett* het wel aan de waarneming zal ontsnappen. Wel zag ik in mijn proeven de „initial delay" van *Cobb.*

Uit deze afwijkingen van den regel van *Borissow* volgt de praktische conclusie, dat, wanneer men uit zijn gegevens met behulp van den regel de sterkte van een maagsap wil uitdrukken, deze zeer zeker zal varieeren al naar den tijd, gedurende welken men heeft laten digereeren en al naar de verdunning, waarmede men geëxperimenteerd heeft.

Wanneer we in tabel VI de pepsine-concentraties I en V nagaan, waarvan de verhouding is als 16 : 1, vinden we:

Pepsine:	I.	V.
na 3 uur:	1.5 mM	0.33 mM
„ 6 „	3.0 „	0.80 „
„ 9 „	4.7 „	1.62 „
„ 12 „	5.58 „	2.30 „

De verhouding der pepsine-concentraties naar den regel van *Borissow* zou dus zijn:

na 3 uur:	$I : V = (1.5)^2 : (0.33)^2 = 20.7 : 1$
„ 6 „	id. $= (3.0)^2 : (0.80)^2 = 14.06 : 1$
„ 9 „	id. $= (4.7)^2 : (1.62)^2 = 8.0 : 1$
„ 12 „	id. $= (5.58)^2 : (2.30)^2 = 6.0 : 1$

We zouden derhalve tusschen 3 en 6 uur digestie de meest nauwkeurige uitkomst hebben verkregen. Nemen we uit dezelfde proef b.v. de oplossingen III en IV, waarvan de concentraties zich verhouden als 2 : 1 dan vinden we:

Pepsine:	III.	IV.
na 3 uur:	0.77 mM	0.58 mM
„ 6 „	1.63 „	1.27 „
„ 9 „	3.00 „	2.25 „
12 „	3.78 „	3.03 „

Naar *Borissow's* regel zou de verhouding der concentraties zijn:

na 3 uur:	III : IV =	0.593 : 0.3364	= 1.8 : 1
„ 6 „	id. =	2.66 : 1.613	= 1.6 : 1
„ 9 „	id. =	9.00 : 5.06	= 1.8 : 1
„ 12 „	id. =	14.29 : 9.181	= 1.5 : 1

In dit geval, waar het verschil der pepsine-concentraties minder uiteenloopt, is dus de uitkomst dichter bij de waarheid.

Ik heb nog getracht den invloed der digestie-producten op de vertering na te gaan, door de laatsten tijdens de digestie weg te dialyseeren.

Ik gebruikte dialysators, (de „Diffusionshülse" van *Schleicher* en *Schüll*), waarin ik telkens 10 cM^3 digestiemengsel bracht met 2 buisjes van *Mett*. Ik sloot de dialysators van boven af door kurken en liet ze dan in een bak met 0.2 % HCl van 37° C. schommelen. Het deel van de dialysators, dat boven den vloeistofspiegel bleef, had ik met collodium bestreken om verdamping tegen te gaan. Ik deed natuurlijk tegelijk proeven zonder dialyse. Ik ondervond, dat de hoeveelheid vloeistof in de dialysators varieerde na verloop van tijd, nu eens was er meer dan 10 cM^3 in (drukverschil binnen en buiten den dialysator?), dan weer minder (door verdamping?), soms ook was de hoeveelheid ongeveer dezelfde gebleven. Dienovereenkomstig was de vertering in de proeven met dialyse nu eens minder, dan weer meer dan in proeven zonder dialyse.

De bronnen van fouten kon ik niet op eenvoudige wijze uitschakelen, zoodat ik verder geen proeven in die richting gedaan heb.

Vroeger besprak ik uitvoerig de verklaring, die *Sawjaloff*[1]) gaf van den regel van *Borissow* bij de methode van *Mett*.

Ik heb nu de proeven van *Sawjaloff* willen herhalen. Ik heb precies

---

1) *Sawjaloff:* l. c.

naar zijn voorschrift de proeven gedaan; ik nam een waterig extrakt van een varkensmaagslijmvlies. Telkens nam ik gelijke hoeveelheden van het extrakt, met water in verschillende verdunningen, en van een 30 % roode-gelatine-oplossing.

Ik vermengde deze bij 40° C. en vulde dan buisjes van *Mett* met deze pepsine-gelatine-oplossing. De buisjes werden terstond tot op ± 0° C. afgekoeld en zoodoende werd de inhoud onmiddellijk vast.

In glazen doosjes deed ik 10 c.M³ $^1/_{10}$ n. HCl, 2 buisjes van *Mett* en liet deze bij kamertemperatuur digereeren. Ik zag echter, dat de uiteinden van de gelatine, in plaats van te worden verteerd, opzwollen. Na eenigen tijd vielen die gezwollen uiteinden in onregelmatige klompjes uiteen.

Hetzelfde zag ik bij buisjes, die gevuld waren met een gelatine-oplossing en in een pepsine-oplossing gedigereerd werden.

Ik probeerde nu betere uitkomsten te verkrijgen, door de proeven schommelend te doen plaats hebben bij kamertemperatuur.

Ik zag nu eens, dat de gelatine voor een gedeelte uit de buisjes van *Mett* verdween, dan weer dat de gelatine juist opzwol. Wanneer de lengten van de opgeloste gelatine-cylindertjes gemeten konden worden, verkreeg ik de meest uiteenloopende getallen. Soms hadden de zwakkere pepsine-oplossingen meer verteerd, soms had oplossing slechts in een gedeelte van een reeks van buisjes met verschillend-geladen gelatine-oplossingen plaats gevonden. Ik kreeg soms getallen, die zoo iets van den regel van *Borissow* vertoonden, dan weer cijfers, waartusschen meer directe evenredigheid scheen te bestaan, maar nooit had ik het a. h. w. in mijn hand, constante uitkomsten te verkrijgen.

Op allerlei manieren heb ik getracht, buisjes te vullen met geladen gelatine-oplossingen. Hiertoe heb ik gelatine-oplossingen verdund, o.a. met geneutraliseerd hondenmaagsap, met zwak zuur hondenmaagsap, met geneutraliseerde en zwakzure varkenspepsine-oplossingen; met een door 10 % Na_2CO_3 zwak alkalisch gemaakt waterig extrakt van varkensmaag-slijmvies.

Ik nam gelatine-oplossingen van verschillende sterkte. Ik nam zoutzuur van verschillende concentratie, varieerde de temperatuur, waarbij gedigereerd werd.

Ik waschte handelsgelatine langen tijd uit met gedestilleerd water, om mogelijke verontreiniging te verwijderen en kleurde daarna met methyleenblauw. Echter heb ik op geen enkele wijze betrouwbare uitkomsten kunnen verkrijgen.

Ik kon derhalve de uitkomsten van *Sawjaloff* niet bevestigen.

Nog op een andere wijze trachtte ik hetzelfde doel te bereiken: ik

maakte kippeneiwit, dat door koken gecoaguleerd was, fijn tot een poeder. Ik bracht afgewogen hoeveelheden eiwit in aanraking met oplossingen van hondenpepsine in 0.1 % zoutzuur, in verschillende verdunningen gedurende 2½ uur in roteerende fleschjes bij kamertemperatuur, om het eiwit de pepsine te laten adsorbeeren. Daarna waschte ik het eiwit uit met gedestilleerd water en bracht het in bepaalde hoeveelheden 0.2 % zoutzuur in fleschjes, liet roteerend digereeren bij 37° C. Na de digestie kookte ik de digestievloeistoffen, filtreerde en bepaalde het N-gehalte van het filtraat naar *Kjeldahl.* Ik kreeg echter tusschen de verschillende filtraten zulke geringe verschillen, dat ook deze proeven een negatief resultaat opleverden. Het is trouwens nog de vraag, of bij deze proeven het eiwit pepsine zal adsorbeeren in evenredigheid met de concentratie van de pepsineoplossing Het geringe verschil, dat ik vond, wijst, dunkt mij, er juist op dat het eiwit telkens ± evenveel, of ten minste uit de sterke oplocsingen weinig meer pepsine dan uit de zwakke had geadsorbeerd.

METHODE VAN GRÜTZNER

Voordat ik overga tot de beschrijving der proeven met de methode van *Grützner*, zal ik eerst een korte uiteenzetting geven van de methodiek. Allereerst zal ik vermelden op welke wijze de karmijnfibrine gemaakt werd.

Een hoeveelheid fibrine werd door herhaaldelijk uitwasschen met water, later met water, waaraan een weinig ammonia was toegevoegd, volkomen bevrijd van de bloedkleurstof; daarna werd door herhaaldelijk uitspoelen met water de ammonia er weer uitgetrokken. De nu geheel ontkleurde fibrine werd fijn gehakt en overgoten met een oplossing van karmijn in water. De karmijnoplossing bevatte ½ % karmijn. Door een weinig ammonia werd de karmijn in het water opgelost en door deze oplossing eenige dagen op een warme plaats te laten staan, werd de overmaat van ammonia er uit verwijderd.

Wanneer de fibrine 24 uur bij kamertemperatuur onder de karmijnoplossing had gestaan, werd deze er af gegoten en nu de gekleurde fibrine zóó lang met gedestilleerd water uitgespoeld, totdat het waschwater geheel kleurloos bleef. De karmijnfibrine werd, aanvankelijk zonder verdere bewerking, bewaard ten deele onder alkohol, ten deele onder glycerine. Voor een proef nam ik een zekere hoeveelheid fibrine, bevrijdde deze door uitwasschen met water en uitpersen door een neteldoeksch lapje van den alkohol of de glycerine en bracht de fibrine daarna in aanraking met een hoeveelheid 0.1 % HCl, waardoor de fibrine in klompjes opzwol. Ik bracht in een reeks reageerbuisjes gelijke, afgewogen hoeveelheden gezwollen karmijnfibrine en gelijke hoeveelheden 0.1 % zoutzuur. Hierna deed ik in elk buisje eenzelfde hoeveelheid van een oplossing van pepsine, maar in verschillende verdunning (pepsine opgelost in en verdund met 0.2 % HCl).

Daar echter het afwegen van de gezwollen fibrine met onnauwkeurigheden moest gepaard gaan, (men is er immers niet zeker van, dat altijd de fibrine in verschillende proeven evenveel zoutzuur heeft opgenomen), heb ik spoedig de karmijnfibrine als droog poeder bereid. Ik bracht hiertoe de karmijnfibrine, na ze door uitpersen in een neteldoeksch lapje zooveel mogelijk watervrij te hebben gemaakt, in een vacuumklok. Nu was na eenige dagen al het water er uit verwijderd.

In een ijzeren mortier stampte ik de fibrine fijn tot een poeder, dat tenslotte gezeefd werd. Ik had nu een mooi fijn-korrelig poeder van karmijn-fibrine, dat pas na langen tijd van haar kleurstof aan 0.1 % HCl afstond.

Het poeder werd droog bewaard. Door nauwkeurig afwegen bracht ik in een reeks reageerbuisjes gelijke hoeveelheden, meestal 50 mgr, karmijn-fibrine; in elk verder 9 cM³ 0.1 % zoutzuur en 1 cM³ oplossing van pepsine in verschillende verdunning.

In den eersten tijd vergeleek ik dan op verschillende tijden der digestie de kleur der digestie-vloeistoffen, na de buisjes vóór de vergelijking geschud te hebben, met de kleuren der 10 buisjes van de kleurschaal (zie pag. 20) en noteerde met welk buisje de te onderzoeken digestie-vloeistof het meest in kleur overeenkwam.

Met opzet schreef ik, dat ik het nummer van het standaardbuisje noteerde, dat het meest overeenkwam in kleur met de digestie-vloeistof. Ik ondervond nl., dat de digestie-vloeistoffen een andere tint hadden, als de standaardbuisjes. Daarom werd het vergelijken der kleur, vooral in de donkere zône, zeer moeilijk. Bovendien veranderde de kleurschaal betrekkelijk snel van kleur.

Het was daarom in alle opzichten verkiezelijk de kleursterkte te bepalen met behulp van den colorimeter van *Grützner*, waarbij de kleur vergeleken kan worden met een digestie-vloeistof. Mijn colorimeter had een schaalverdeeling, loopend van 0 tot 9, waartusschen telkens nog één deelstreep. Gemakkelijk kon ik tusschen 2 deelstrepen nog 5 onderdeelen schatten. Ik heb daarom in mijn tabellen de kleursterkte weergegeven in getallen van 0.0; 0.1; 0.2 etc. tot 8.8; 8.9; 9.0.

In het wigvormig glas van den colorimeter deed ik een willekeurige digestievloeistof, die ik van te voren gefiltreerd had door glaswol en bovendien gecentrifugeerd, om onopgeloste karmijnfibrinedeeltjes te verwijderen. Na eenige uren veranderde echter ook zulk een digestievloeistof weer van kleurtint, zoodat dan een versche bereid moest worden.

Ik bracht, zooals ik reeds vermeldde, afgewogen hoeveelheden karmijnfibrine in de reageerbuisjes, daarna in elk buisje 9 cM³ 0.1 % HCl. Voordat ik nu de oplossing van pepsine toevoegde, liet ik een bepaalden tijd karmijnfibrine zwellen in het zoutzuur. Dezen tijd bepaalde ik meestal op 10 minuten. Laat men toch de fibrine minder lang zwellen, dan is de vertering ook geringer. Dit volgt o.a. uit de volgende proef.

Proef 1

In A: { 50 mgr. karmijnfibrine.
9 cM³ 0.1 % HCl.
1 cM³ 0.04 % oplossing van hondenpepsine in 0.2 % HCl.

In *B*: als A: maar 1 cM³ 0.02 % opl. v. hondenpepsine in 0.2 % HCl.
„ *C*: als A: maar 1 cM³ 0.01 % „ „ „ „ „ „ „

Ik maakte drie reeksen, waarin ik achtereenvolgens de fibrine 5, 10 en 20 min. liet zwellen, voordat ik de oplossing van pepsine erbij bracht. De digestie duurde 10 minuten bij kamertemperatuur.

Pepsine :	*A*	*B*	*C*
Gezwollen 5 min.:	1.65	0.8	0.4
„ 10 „ :	1.95	1.1	0.55
„ 20 „ :	1.90	1.0	0.55

We vinden derhalve na 10 en 20 minuten zwellen de digestie sterker, dan na 5 minuten, terwijl tusschen het zwellen gedurende 10 en 20 minuten praktisch geen verschil bestaat. Ook heeft de temperatuur invloed op de snelheid, waarmede de fibrine opzwelt. Liet ik de digestie rustig in de buisjes voortgaan en bepaalde ik na eenigen tijd de kleursterkte der digestievloeistof, dan kreeg ik dikwijls onregelmatige uitkomsten. Daarom roerde ik met een glazen staaf de digestie-vloeistoffen aan 't begin der vertering en daarna om de vijf minuten flink dooreen.

Na de bepaalde tijden filtreerde ik dan de digestievloeistoffen door glaswol en bracht ze achtereenvolgens, te beginnen met de zwakst gekleurde vloeistof, in het reageerbuisje van den colorimeter.

Dat het telkens roeren van de digestiemengels een versnellenden invloed heeft op de digestie is gemakkelijk aan te toonen. *Wojwodoff* [1]) ontkent dit.

Proef 2

In 2 reageerbuisjes bracht ik { 1 cM³ 0.02% opl. van varkenspepsine
9 cM³ 0.1 % HCl. } 10 min.
250 mgr. karmijnfibrine } zwellen.

Het eerste liet ik 5 min. digereeren bij kamertemperatuur rustig, in het tweede roerde ik met een glazen staaf ± om de minuut:

I 5 min. gedigereerd in rust: 0.3.
II 5 „ „ roerend: 1.5.

---

1) *Wojwodoff*: l. c. s. 18.

Door het roeren der digestievloeistof zal toch een grootere hoeveelheid van de pepsine uit de oplossing met de fibrine in aanraking komen.

Hetzelfde komt duidelijk uit in de volgende proef.

Proef 3

in I en II { 300 mgr. karmijn-fibrine / 9 cM³ 0.1 % HCl. } 10 min. laten zwellen.
1 cM³ oplossing (0.02 %) van varkenspepsine.

I liet ik rustig in vertikalen stand 5 minuten digereeren, terwijl ik II, gesloten door een kurk, horizontaal liggend, liet digereeren.

I na 5 min. : 0.5.
II na 5 „ : 2.1.

We zullen nu in de volgende proeven den gang der digestie bij de methode van *Grützner* nagaan.

Proef 4

In I : 1 cM³ oplossing van varkenspepsine 0.02 % } en 50 mgr. karmijnfibrine
„ II : id. „ „ „ 0.01 % } + 9 cM³ 0.1 % HCl.
„ III: id. „ „ „ 0.005 % } 10 min. laten zwellen.

Digestie bij kamertemperatuur.

Tabel

Pepsine:	I.	II.	III.
na 5 min.	0.7	0.4	0.2
„ 10 „	1.25	0.85	0.5
„ 15 „	1.80	1.30	0.8
„ 20 „	2.30	1.70	1.1
„ 25 „	2.80	2.15	1.45

Ik heb uit de tabellen weer telkens 2 stel krommen geconstrueerd, om een beter overzicht te krijgen.

1°. *Figuur VIIa—Xa:*

Op de abscis is de vertering afgezet en op de ordinaat de tijd in minuten.

De gestippelde lijn geeft het beloop der digestie weer, wanneer, vol-

gens den regel der evenredigheid met den tijd, de digestie berekend wordt uit de vertering na 5 min.

2°. *Figuur VIIb—Xb*:

Op de abscis is de digestie afgezet en op de ordinant de pepsine-concentratie.

De — — — — lijn geeft het beloop weer, wanneer de digestie, evenredig met de pepsine-concentratie, berekend wordt uit de zwakste pepsine-concentratie en evenzoo de —·—·— lijn, wanneer de regel van *Schütz* geldig was.

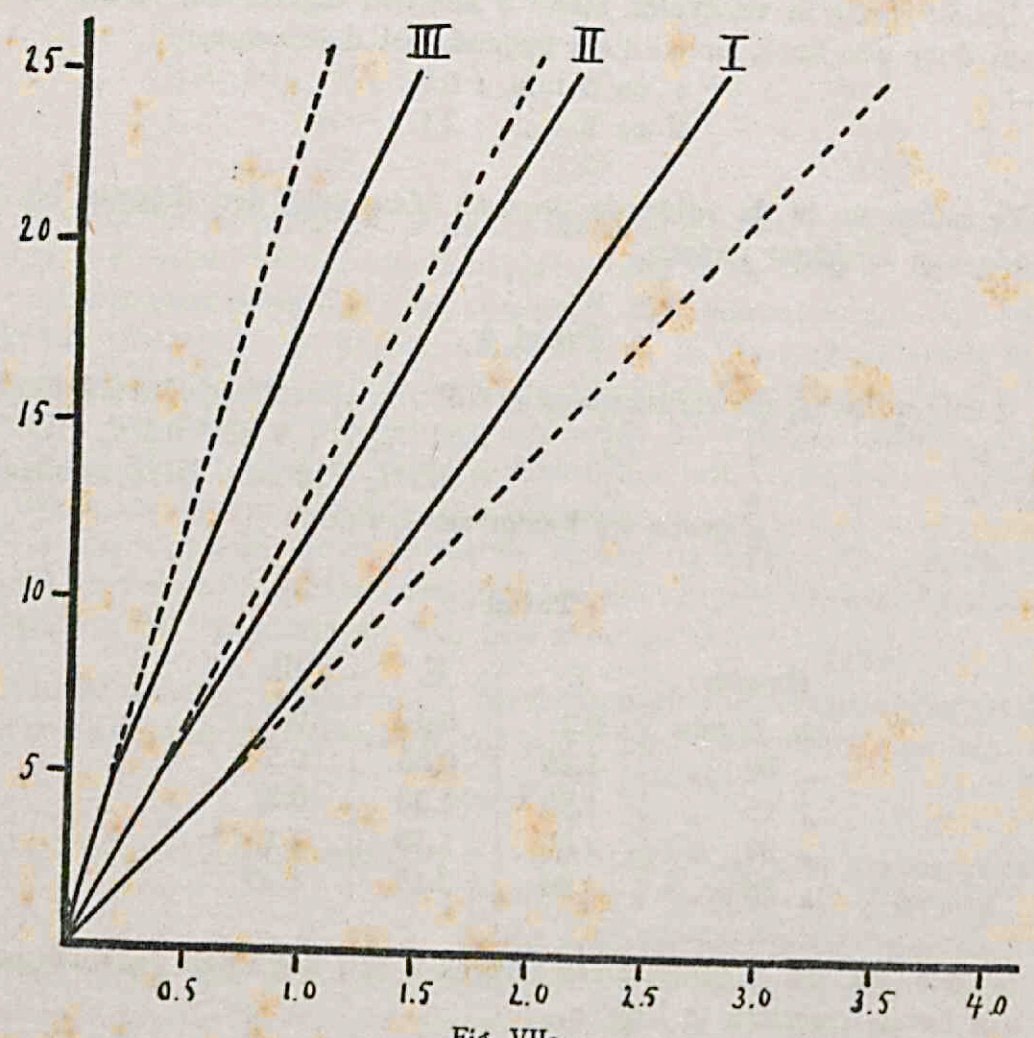

Fig. VIIa.

We zien in *Figuur VIIa*:

1°. dat II en III meer verteerd hebben, dan men uit directe evenredigheid na 5 min. zou berekenen;

2°. dat I minder heeft verteerd.

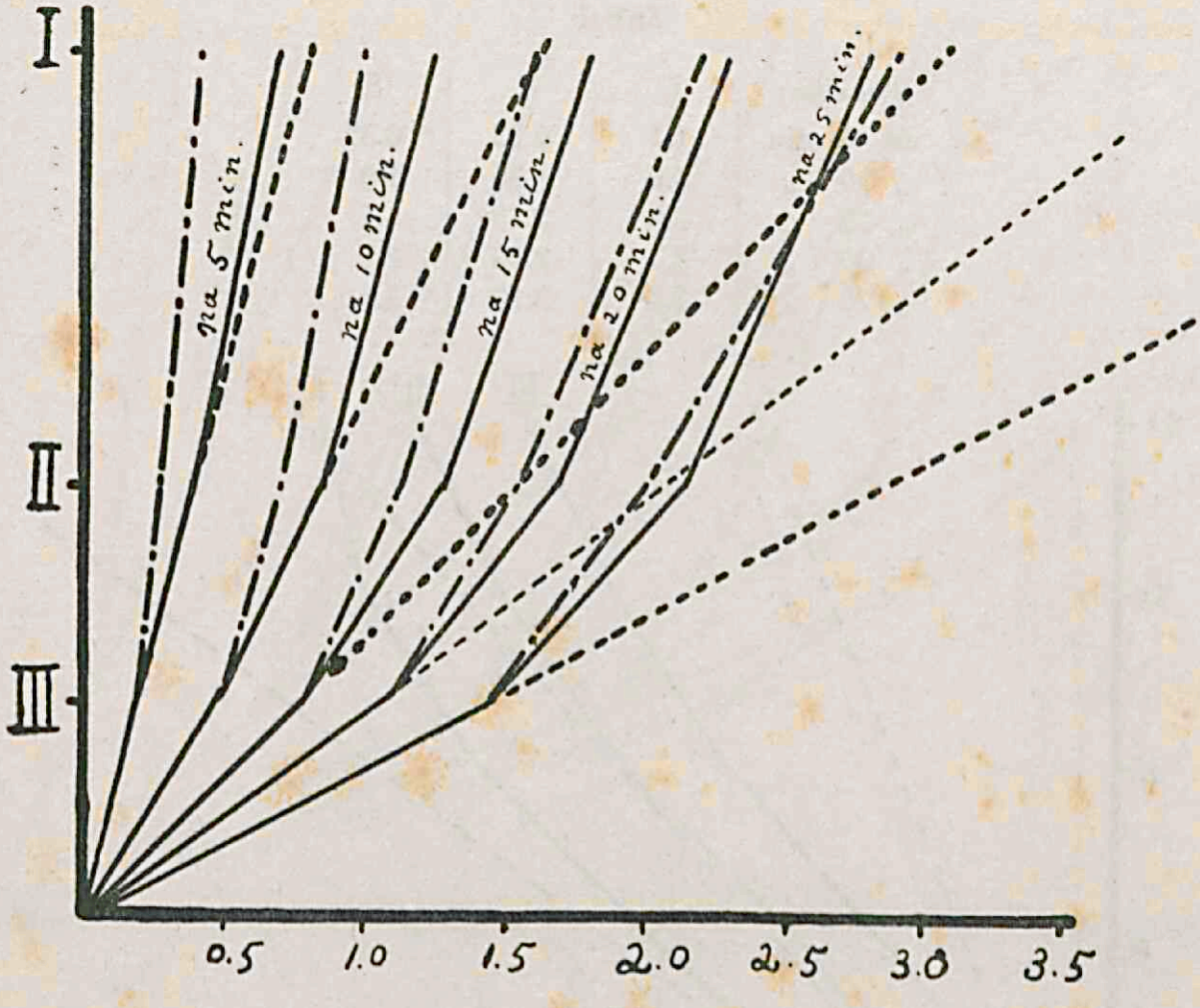

Fig. VIIb.

In *Figuur VIIb*:

1°. na 5 min. bestaat ± directe evenredigheid;

2°. tot 20 min. is door de sterkere concentraties iets meer verteerd, dan men naar de wortelverhouding zou verwachten;

3°. na 25 min. is door I zelfs minder verteerd, dan men naar deze evenredigheid zou verwachten.

Proef 5

I : 1 cM³ 0.02 % oplossing van varkenspepsine
II : id. 0.01 % " " "
III: id. 0.005 % " " "
} en 50 mgr. karmijnfibrine + 9 cM³ 0.1 % HCl. Zwellen 10 min.

Digestie bij kamertemperatuur

Tabel

Pepsine:	I.	II.	III.
na 5 min.	1.1	0.75	0.35
„ 10 „	2.0	1.35	1.0
„ 15 „	2.8	2.15	1.7
„ 20 „	3.3	2.70	2.2
„ 25 „	3.5	3.10	2.6

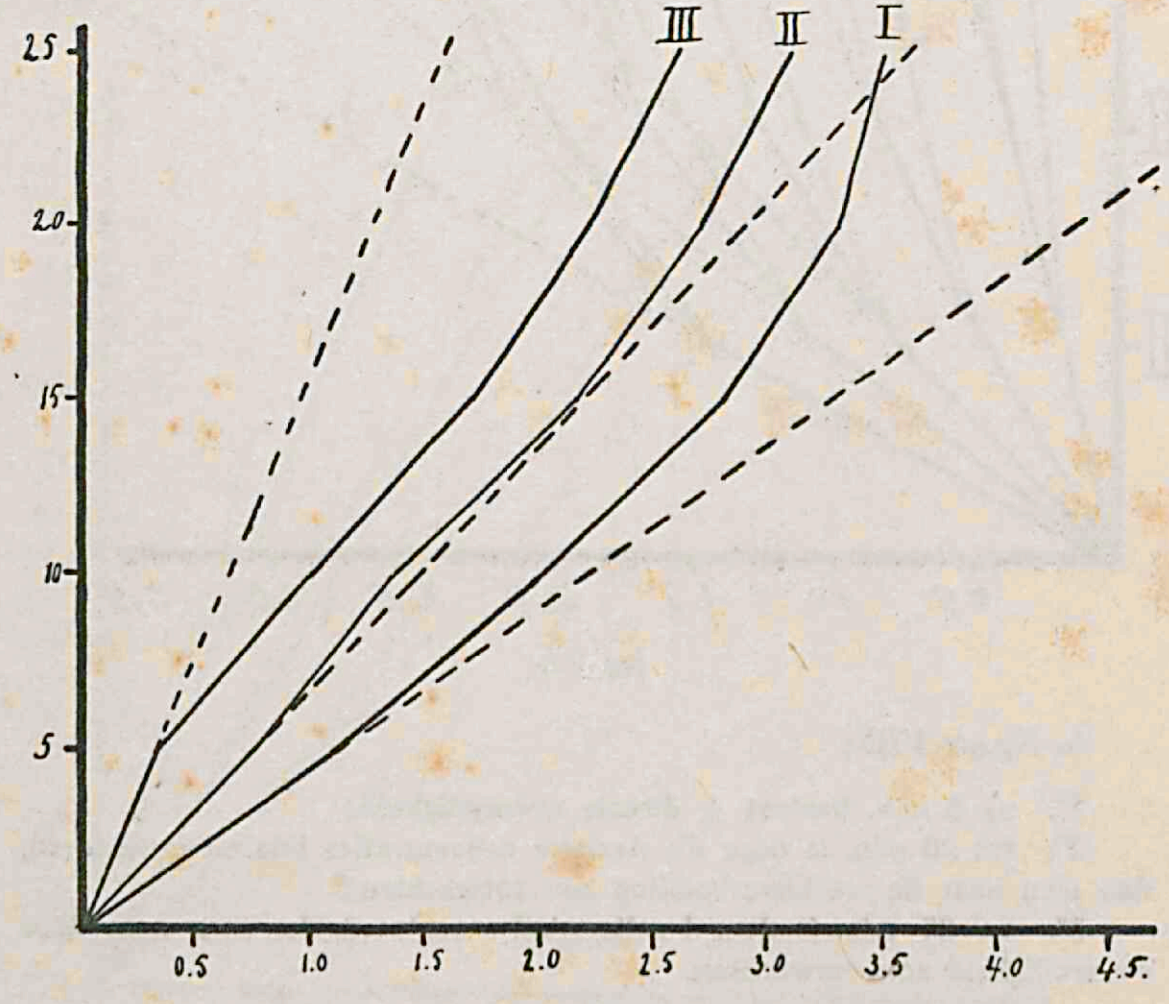

Fig. VIIIa.

We zien in: *Fig. VIIIa*:

III heeft meer verteerd, dan men zou verwachten uit de evenredigheid met den tijd, maar toch buigt de kromme zich na 15 min. naar de ordinaat.

I en II hebben voortdurend te weinig verteerd.

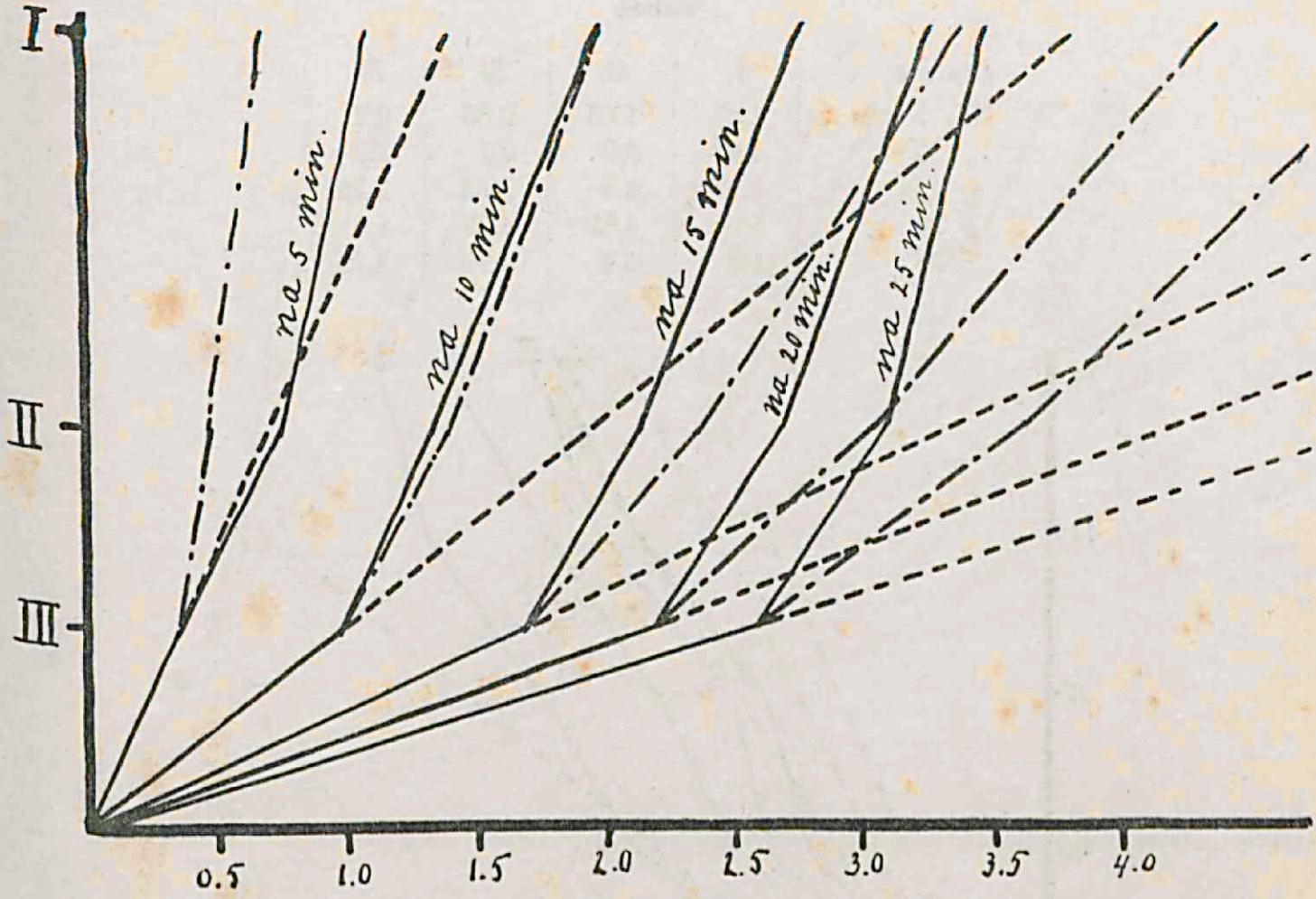

Fig. VIIIb.

In *Fig. VIIIb*:

Na 5 min. hebben I en II meer verteerd, dan naar de wortelverhouding zou worden verwacht. Na 10 min. is deze verhouding ± aanwezig. Later hebben de sterkere concentraties steeds minder verteerd.

Na 5 min. bestaat tusschen II en III ± evenredigheid, maar I heeft reeds minder verteerd.

Proef 6

I : 1 cM³ 0.02 % oplossing van varkenspepsine	}	+ 50 mgr. karmijnfibrine
II : id. „ „ 2 × verd. met 0.2 % HCl.	}	en 9 cM³ 0.1 % HCl.
III : id. „ „ 3 × „ „ „	}	Zwellen 10 min.
IV : id. „ „ 4 × „ „ „	}	Temp. 18° C.

Tabel

Pepsine . .	I.	II.	III.	IV.
Na 5 min. .	1.85	1.05	0.85	0.7
„ 10 „ .	4.0	3.0	2.7	2.3
„ 15 „ .	4.95	3.8	3.05	2.75
„ 20 „ .	6.0	4.85	4.35	4.0
„ 25 „ .	6.5	5.8	4.95	4.75

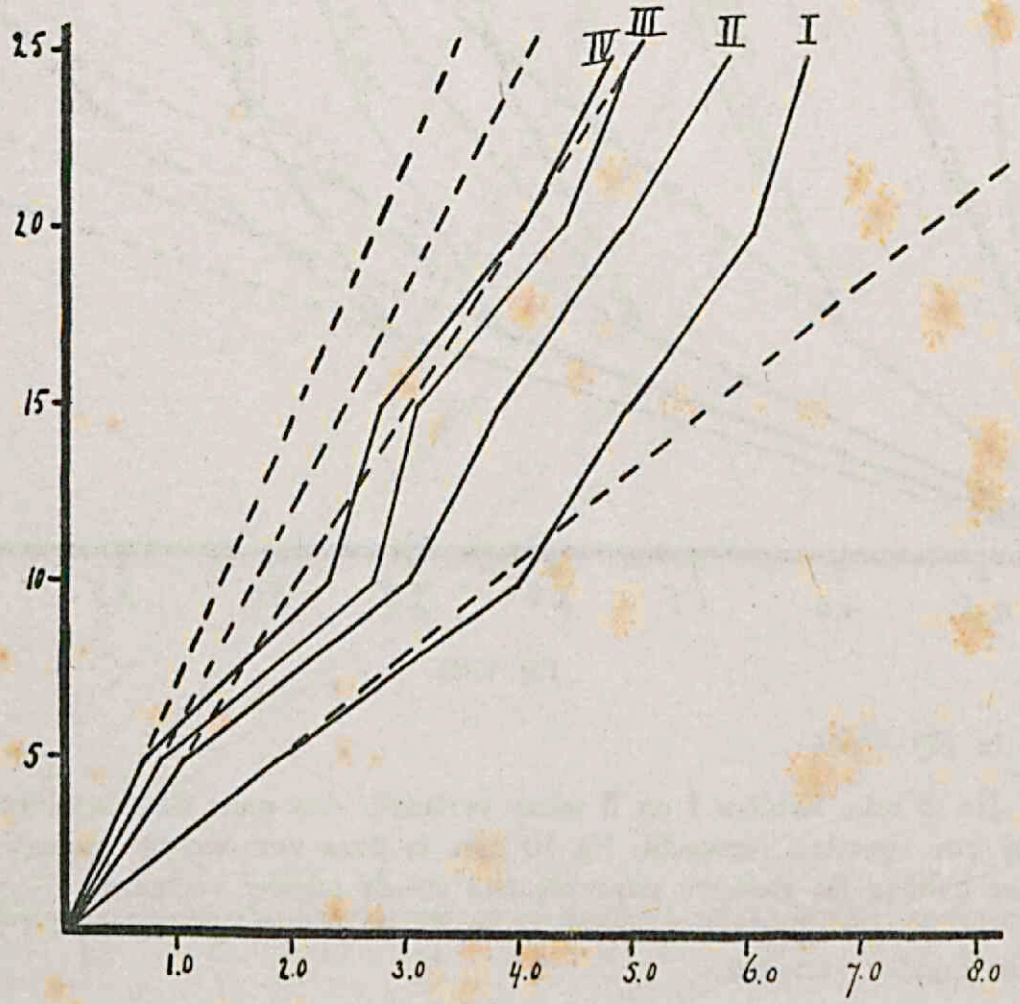

Fig. IXa.

In *Fig. IXa*:

II, III en IV hebben steeds meer verteerd, dan men uit de digestie na 5 min. zou berekenen; later buigen de lijnen zich toch weer naar de ordinaat.

I heeft eerst meer verteerd, dan na 5 minuten, maar later weer minder.

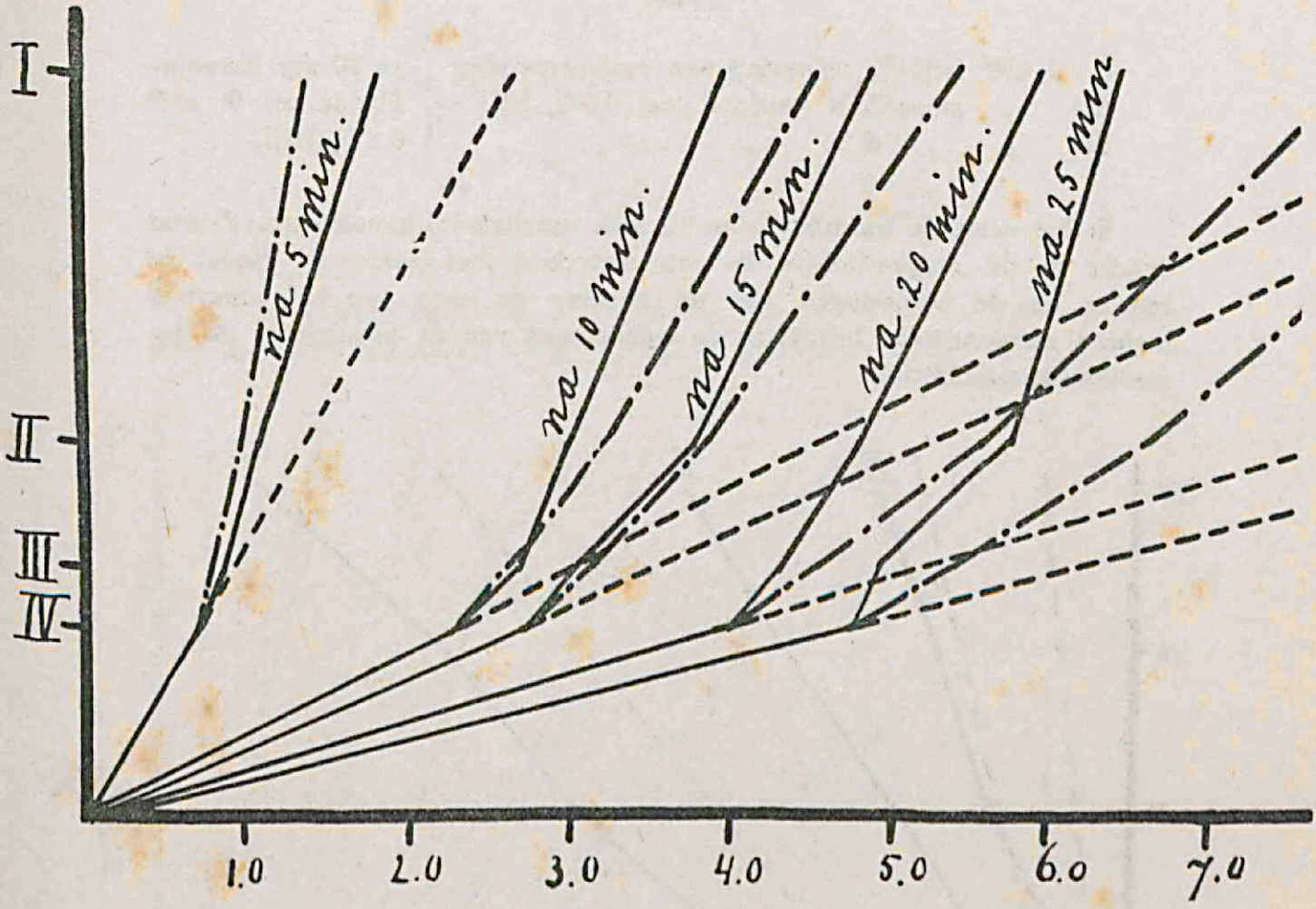

Fig. IXb.

In *Fig. IXb*:

De sterkere pepsine-concentraties hebben voortdurend minder verteerd, dan men zou berekenen uit IV naar directe evenredigheid.

Na 5 min. hebben I, II en III meer verteerd, dan men zou berekenen uit IV naar de wortelverhouding; evenzoo III na 10 min., maar later blijven steeds de sterkere oplossingen van het enzym achter.

Ik zou nog tal van proeven kunnen vermelden, alle bij kamertemperatuur genomen, die hetzelfde of een dergelijk beloop hadden. Ik wil nog één proef vermelden, die echter bij lage temperatuur nl. ± 0° C. genomen werd.

Proef 7

I : 1 cM³ 0.02 % oplossing van varkenspepsine	}	en 50 mgr. karmijn-
II : „ maar 2 × verdund met 0.2 % HCl.	}	fibrine en 9 cM³
III: „ „ 4 × „ „ „ „	}	0.1 % HCl.

Ik liet eerst de karmijnfibrine 10 min. zwellen bij kamertemp.; daarna bracht ik de reageerbuisjes in een waterbad met stukjes ijs. Nadat de buisjes en de oplossingen van de pepsine de temp. van het waterbad hadden aangenomen, bracht ik de oplossingen van de pepsine bij de gezwollen karmijnfibrine.

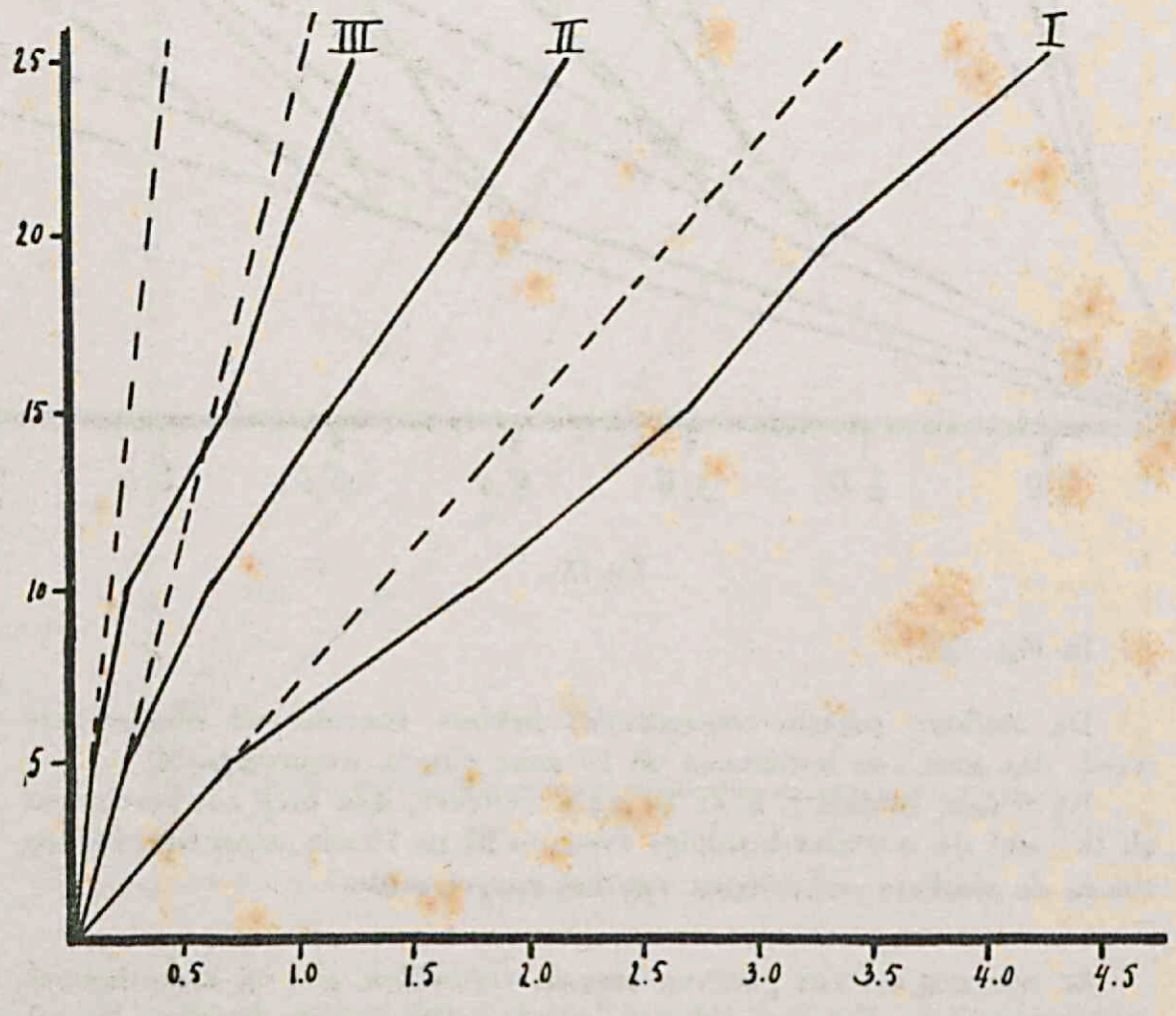

Fig. Xa.

Tabel

Pepsine:	I.	II.	III.
na 5 min.	0.7	0.25	0.10
„ 10 „	1.75	0.60	0.25
„ 15 „	2.70	1.15	0.70
„ 20 „	3.35	1.70	0.95
„ 25 „	4.30	2.20	1.25

In Fig. X*a*: (pag. 116)

Er is voortdurend meer verteerd, dan men naar de directe evenredigheid met den tijd uit de vertering „na 5 min." zou berekenen.

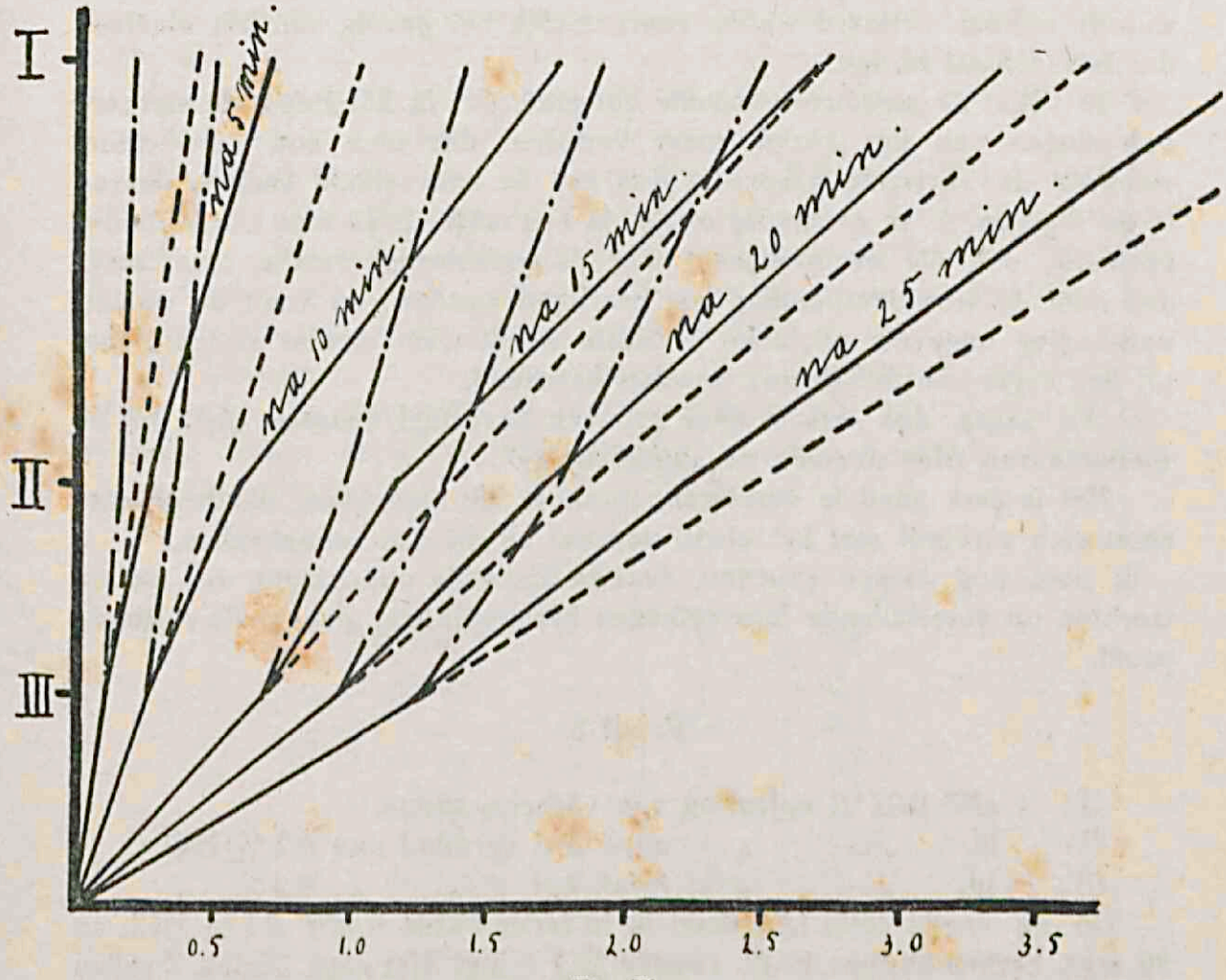

Fig. Xb.

In Fig. X*b*:

De sterkere pepsineconcentraties hebben voortdurend meer verteerd,

dan men naar de evenredigheid met den wortel van de pepsineconcentratie uit III zou berekenen. Na 5 en 10 min. hebben ze bovendien ook meer verteerd, dan men uit de directe evenredigheid met de pepsineconcentratie zou afleiden, maar later minder.

Wanneer we derhalve de resultaten van de proeven bij kamertemperatuur genomen, met die van de proef bij ± 0° C. combineeren, dan mogen we besluiten, dat van een bepaalden regel bij de methode van *Grützner* niet kan gesproken worden. Uit den loop der krommen mogen we besluiten:

1e. *Wat den tijd betreft:* dat in het allereerste begin de vertering geringer is, dan later. Hierop volgt na korter of langer tijd, afhankelijk van de sterkte der pepsineoplossing en de temperatuur, een periode, waarin minder verteerd wordt, voornamelijk het gevolg van het afnemen der hoeveelheid fibrine.

2e *Wat de pepsineconcentratie aangaat:* dat in het begin de sterkere oplossingen van het enzym meer verteren, dan men zou verwachten, wanneer de vertering evenredig was aan de hoeveelheid enzym; daarna is de digestie ± er evenredig mede; in een volgende periode wordt minder verteerd, dan uit evenredigheid met de pepsineconcentratie, maar meer dan naar de wortelverhouding zou berekend worden; nu komt de wortelverhouding ongeveer uit, maar tenslotte wordt weer minder verteerd dan uit den regel van *Schütz* zou worden berekend.

We zagen dus ook in deze proeven bevestigd, hetgeen *Cobb* bij de methode van *Mett* noemde de „initial delay".

Het is zeer goed te verklaren, wanneer we aannemen, dat de pepsine eerst zich verbindt met het eiwit, voordat zij dit doet uiteenvallen.

Ik nam nog eenige proeven, waarin dezelfde oplossingen van enzym werkten op verschillende hoeveelheden karmijnfibrine. Zoo in de volgende proef.

Proef 8

I: 1 cM³ 0.02 % oplossing van varkenspepsine.
II: id. „ „ maar 3 × verdund met 0.2 % HCl.
III: id. „ „ maar 9 × „ „ 0.2 % „

In de eerste serie (A.) deed ik in ieder buisje 9 cM³ 0.1 % HCl. en 50 mgr. karmijnfibrine; in de tweede (B.) echter 100 mgr. fibrine. Zwellen 15 min. Digestie bij kamertemperatuur.

Tabel

Pepsine . .	I.		II		III.	
	A.	B.	A.	B.	A.	B.
Na 5 min. .	1.05	2.3	0.65	1.3	0.2	0.55
„ 10 „ .	1.90	4.0	1.35	2.7	0.5	1.60
„ 15 „ .	2.45	5.0	1.80	3.65	1.0	2.10
„ 20 „ .	2.95	6.0	2.10	4.7	1.45	3.0
„ 25 „ .	3.2	6.7	2.45	5.8	1.70	3.4

We zien, zooals *Wojwodoff* [1]) ook vermeldt, dat bij de aanwezigheid van 2 maal meer fibrine ongeveer 2 maal zooveel verteerd wordt, hetgeen reeds a priori was te verwachten. Dit maakt dus wel waarschijnlijk, dat onder de gegeven proefvoorwaarden remming door digestieproducten geen belangrijke rol zal spelen. Anders toch zouden we moeten verwachten, dat de pepsine in de buisjes met 100 mgr. fibrine niet 2 maal meer verteerd had, dan in die met 50 mgr. fibrine.

Het gaat derhalve niet aan, zooals *Korn en Wojwodoff* willen, te zeggen, dat voor de methode van *Grützner* de regel van *Schütz* zou opgaan. Vinden we uitkomsten, die den regel schijnen te bevestigen, dan is dit louter toeval, afhankelijk van den tijd waarop, en de verdunningen van het enzym waarmede, de digestie wordt bepaald.

We kunnen in onze proeven nog nagaan hoe groot de vertering is, wanneer we de producten van pepsine-concentratie en tijd van digestie zoodanig kiezen, dat deze gelijk zijn: b.v. in proef 4 was de verhouding der pepsine-concentraties van I, II en III als 4 : 2 : 1.

Tabel A

Pepsine:	I.	II.	III.
p t = 5	—	—	0.2
id. = 10	—	0.4	0.5
id. = 15	—	—	0.8
id. = 20	0.7	0.85	1.1
id. = 25	—	—	1.45
id. = 30	—	1.30	—
id. = 40	1.25	1.70	—

Ik zal een dergelijke tabel samenstellen uit de uitkomsten van proef 7, waarbij de digestie bij ± 0° C plaats had.

---

1) *Wojwodoff*: l. c.

Tabel B

Pepsine:	I.	II.	III.
$pt = 5$	—	—	0.10
id. $= 10$	—	0.25	0.25
id. $= 20$	0.7	0.60	0.95
id. $= 40$	1.75	1.70	—

We zien in tabel A, dat de zwakkere pepsine-concentraties meer hebben verteerd dan de sterkere bij dezelfde producten $p\,t$; in tabel B, dat de vertering gelijk is, of dat de sterkere oplossingen meer hebben verteerd en alleen voor pepsine III na 20 min. dat de zwakkere meer heeft verteerd. Bij de bespreking van de onderzoekingen van *Grützner* zagen wij, dat ook hij gevonden had, dat de sterkere pepsine-concentraties naar verhouding te weinig hadden verteerd. Dit stemt derhalve overeen met de resultaten van proef 4.

Dat de uitkomst van proef 7 voor een deel niet klopt met die van proef 4, is natuurlijk zeer goed te verklaren uit het beloop der kromme bij de lage temperatuur. We zagen immers, dat juist dan in het begin de vertering veel langzamer verliep, vooral bij de zwakkere oplossingen van het enzym, dan later.

Ging men ook bij kamertemperatuur de digestie na in het allereerste begin, dan zou men ook hier vinden, dat bij dezelfde $p\,t$ de vertering grooter was bij de hoogere waarden voor p; daarna zou volgen een moment, waarop bij gelijke $p\,t$ dezelfde waarde voor de digestie werd gevonden; ten slotte een periode, waarin de sterkere pepsine-concentraties steeds meer achterbleven, ook weer voornamelijk het gevolg van het relatief sterker afnemen van de hoeveelheid te digereeren fibrine bij de sterkere oplossingen van de pepsine.

Vroeger bespraken we, dat *Hedin* een verklaring had gegeven, door aan te nemen, dat bij de sterkere oplossingen van enzym a. h. w. pepsine in overmaat zou aanwezig zijn. Ik geloof, dat deze verklaring bij onze proeven niet opgaat, daar uit de proeven met verschillende hoeveelheden fibrine bleek, dat in de zwakkere oplossingen relatief evenveel enzym nog beschikbaar was als in de sterkere oplossingen. Ik zoek derhalve de verklaring meer in het relatief sterker afnemen van de hoeveelheid fibrine bij de sterkere enzymconcentraties.

Daar we gezien hebben, dat bij de methode van *Grützner* van een eigenlijken pepsineregel geen sprake is, is er altijd eenige onzekerheid, als men

uit de uitkomsten de sterkte van een maagsap wenscht uit te drukken in getallen. Voor het kwantitatief klinisch onderzoek zal men die methode de voorkeur geven, die de sterkte in getallen uitdrukt. Dit is, geloof ik, de voornaamste reden, waarom de methode zoo weinig, althans voor klinisch onderzoek, is gebruikt. Wil men twee maagsappen of oplossingen van pepsine met elkander vergelijken zonder de verhouding in getallen uit te drukken, dan heeft de methode zeker haar groote gevoeligheid en de snelheid, waarmede de resultaten verkregen worden, voor op vele andere methoden.

Wil men zijn uitkomsten met elkander vergelijken, dan moet men zijn proeven altijd onder precies dezelfde omstandigheden nemen. Vooreerst zou dan de vergelijkingsvloeistof altijd dezelfde kleursterkte moeten bezitten, zou men bij constante temperatuur de fibrine vóór de digestie gedurende even langen tijd moeten laten zwellen en laten verteren.

Men zou fibrine moeten hebben van constante samenstelling, tenminste zij zou altijd even snel moeten verteerd worden.

Dat dit laatste o. a. een factor van beteekenis is, heb ik kunnen nagaan.

Ik heb tegelijk versche fibrine en fibrine, langen tijd onder alkohol bewaard, door karmijnoplossing gekleurd en toen gelijke porties even lang laten zwellen en digereeren door gelijke hoeveelheden pepsine.

Proef 9

Ia: 1 cM³ 0.02 % oplossing van varkenspepsine
Ib: „ 0.01 % „ „ „
} 9 cM³ 0.1 % HCl + 150 mgr. *versche* karmijnfibrine.

IIa: als Ia
IIb: als Ib
} 9 cM³ 0.1 % zoutzuur + 150 mgr. karmijnfibrine, waarvan de fibrine langen tijd onder *alkohol* had gestaan.

Tabel

Pepsine . .	Ia.	Ib.	IIa.	IIb.
Na 5 min. .	5.0	2.8	2.8	1.35
„ 10 „ .	7.5	4.7	4.7	2.8
„ 15 „ .	9.0	6.0	6.5	4.3
„ 20 „ .	—	7.2	7.8	5.4
„ 25 „ .	—	8.0	—	6.4

We zien derhalve, dat de fibrine, die langen tijd met alkohol in aanraking was geweest, langzamer gedigereerd werd, of ten minste minder kleurstof afgaf, want het is natuurlijk ook mogelijk, dat deze fibrine minder kleurstof had opgenomen bij het kleuren.

Ik heb het laatste moment uitgeschakeld door een portie versche fibrine te kleuren door een karmijnoplossing. Een deel van deze karmijnfibrine bewaarde ik als droog poeder, een ander deel onder alkohol, waaraan de fibrine geen karmijn afstond. Na gedurende 2 maanden de karmijnfibrine onder alkohol te hebben laten staan, waschte ik den alkohol uit een portie fibrine door middel van gedestilleerd water, dat volkomen kleurloos bleef. Daarna droogde ik ook deze fibrine en deed nu vergelijkende bepalingen tegelijk met de karmijnfibrine, die droog was bewaard gebleven.

Proef 10

I. 1 cM³ 0.04 % oplossing van honden-pepsine
II. „ 0.02 % „ „ „
III. „ 0.013 % „ „ „
IV. „ 0.01 % „ „ „

} 9 cM³ 0.1 % HCl + 50 mGr. karmijnfibrine.

Ik liet de fibrine 15 min. zwellen en bij kamertemp. digereeren.

Tabel

	Pepsine:	I.	II.	III.	IV.	*Digestietijd.*
Fibrine	*Op alkohol bewaard.*	1.50	1.0	0.85	0.7	10 min.
	Droog „	3.80	2.10	1.85	1.1	
	Op alkohol „	4.30	3.7	2.70	2.5	20 min.
	Droog „	6.80	5.8	4.60	3.8	

Hier was derhalve de fibrine, die onder alkohol gedurende 2 maanden was bewaard geweest, minder snel gedigereerd. De fibrine ondergaat derhalve door den alkohol de een of andere verandering. Toen ik de fibrine nog maar 14 dagen onder alkohol had laten staan, vond ik geen verschil met de versche, droge karmijnfibrine. Daar, vroeger althans, *Grützner* zijn karmijnfibrine bewaarde onder glycerine, wilde ik zien, welken invloed deze had op de vertering van fibrine. Hierbij stuitte ik echter op dit bezwaar, dat de karmijn door de glycerine tamelijk sterk werd uitgetrokken uit de fibrine, zoodat van nauwkeurige, vergelijkende bepalingen geen sprake kon zijn,

Vroeger heb ik reeds gewezen op het feit, dat de karmijnglycerine-oplossing een andere kleurtint heeft, dan de digestievloeistoffen. Het zou anders een groot voordeel voor de methode zijn, wanneer men altijd een kunstmatige vergelijkingsvloeistof had, die dezelfde kleursterkte bezat. Ik heb hiertoe een dergelijke vloeistof bereid, die ik vergeleek met een digestievloeistof. Ik nam een 5 % oplossing van karmijn in een verzadigde oplossing van lithiumcarbonaat. Deze verdunde ik nog 200-voudig met aqua destillata en bracht haar in het wigvormig glas van den colorimeter. Hier-

mede bepaalde ik de kleursterkte van een reeks digestievloeistoffen en deed dezelfde bepalingen na een digestievloeistof in het wigvormige glas te hebben gedaan.

Proef 11

I. 1 cM³ 0.04 % oplossing van hondenpepsine
II. „ id. maar 2 × verdund met 0.2 % HCl.
III. „ id. „ 3 × „ „ „
IV. „ id. „ 4 × „ „ „

} 9 cM³ 0.1 % HCl. en 50 mgr. karmijnfibrine. Zwellen 10 minuten.

Digestie bij kamertemperatuur.

Tabel

Pepsine . .	I.	II.	III.	IV.	*Vergeleken met:*
Na 5 min.	0.35	0.275	0.15	0.10	*digestievloeistof.*
	0.70	0.50	0.30	0.20	*karmijnoplossing.*
„ 10 „	0.70	0.45	0.30	0.25	*digestievloeistof.*
	1.20	0.75	0.60	0.50	*karmijnoplossing.*
„ 20 „	1.45	0.90	0.75	0.70	*digestievloeistof.*
	2.3	1.55	1.30	1.25	*karmijnoplossing.*

Om nu beter de uitkomsten te kunnen vergelijken, heb ik in de volgende tabel de vertering van IV telkens = 1 gesteld.

Tabel

Pepsine . .	I.	II.	III.	IV.	*Vergeleken met:*
Na 5 min.	3.50	2.75	1.5	1.0	*digestievloeistof.*
	3.50	2.50	1.5	1.0	*karmijn-oplossing.*
„ 10 „	2.80	1.80	1.20	1.0	*digestievloeistof.*
	2.40	1.50	1.20	1.0	*karmijn-oplossing.*
„ 20 „	2.07	1.29	1.07	1.0	*digestievloeistof.*
	1.90	1.23	1.04	1.0	*karmijn-oplossing.*

We zien, dat de verschillen niet groot zijn. Na eenige oefening geloof ik, dat we ons met zulk een standaardvloeistof wel zouden kunnen behelpen.

Daar de methode van *Grützner* zoo gevoelig is voor allerlei wisselingen in de proefvoorwaarden, is het bijna onmogelijk altijd onder precies dezelfde omstandigheden de proeven met karmijnfibrine te nemen. Men zou al deze bezwaren kunnen ontgaan door het te onderzoeken maagsap te vergelijken met een oplossing van pepsine van bekende concentratie en met bekende verterende kracht. Maar zelfs dan nog zal men de sterkte van het maagsap slechts bij benadering kunnen uitdrukken in die van de

bedoelde oplossing van pepsine, daar immers bij de methode van *Grützner* een bepaalde regel niet geldig is.

Daar *Sahli*[1]) in zijn leerboek heeft aangeraden fibrine te kleuren met berlijnsch blauw en dan de digestievloeistoffen te vergelijken met een oplossing van onoplosbaar berlijnsch blauw in $^1/_{10}$ normaal oxaalzuur, welke oplossing, in toegesmolten buisjes bewaard en tegen licht beschut, niet zou veranderen van kleur, heb ik deze wijziging van de methode nagegaan.

Ik volgde het voorschrift van *Sahli:* ik overgoot een portie fijngehakte, versche fibrine met zooveel 1 % oplossing van ferrocyaankalium, dat juist de fibrine er door bedekt was en liet deze 8 uur bij kamertemperatuur staan. De ferrocyaankalium-oplossing werd daarna zonder uitpersen afgegoten en deze hoeveelheid gemeten. Met evenveel cM³ eener verdunde oplossing van ijzerchloride als de hoeveelheid afgegoten ferrocyaankalium-oplossing bedroeg, werd nu de fibrine in een mortiertje innig gemengd. De verdunde oplossing van ijzerchloride werd aldus bereid: op telkens 10 cM³ van de ferrocyaankalium-oplossing, die voor impregnatie van de fibrine was gebruikt, nam ik 1 cM³ van een 6 maal verdunden liquor ferri-sesquichlorati uit de pharmacopee en bracht met water deze hoeveelheid op hetzelfde quantum, als de hoeveelheid afgegoten ferrocyaankalium-oplossing bedroeg. Bijv.: De fibrine was overgoten met 100 cM³ 1 % oplossing van ferrocyaankalium. Ik liet ze hierop 8 uur staan. 50 cM³ ferrocyaankalium-oplossing werd afgegoten. Nu nam ik liquor ferri-sesquichlorati, die ik verdunde met 5 volumina aqua dest. Van deze verdunning bracht ik ($\frac{100}{10}$ =) 10 cM³ met (50—10 =) 40 cM³ aqua dest. op de fibrine in een mortier.

De blauw gekleurde fibrine waschte ik uit met water, totdat het waschwater geheel kleurloos bleef. Op de vroeger beschreven wijze droogde ik de fibrine en maakte haar fijn tot een poeder. In het wigvormig glas bracht ik een oplossing van berlijnsch blauw in $^1/_{10}$ n. oxaalzuur. Mijn proeven waren verder ingericht als bij de karmijnfibrinemethode. Echter ook nu had de standaardoplossing een andere tint, als de digestievloeistoffen. Eenig voordeel boven de methode van *Grützner* kon ik van de wijziging naar *Sahli* niet ontdekken. Het heeft dan ook geen zin proeven, met deze fibrine genomen, te vermelden.

Ten slotte heb ik nog eenige proeven genomen met den verdunnings-

---

1) *Sahli*: l. c. in Lehrbuch: S. 522 u. 523.

colorimeter van *Stanford*[1] [2]). *Stanford* heeft er op gewezen, dat verschillende colorimeters behebt zijn met bronnen van fouten. Wanneer men toch de vloeistoffen vergelijkt, wat de kleur betreft, waarbij niet door een even dikke vloeistofzuil gekeken wordt, dan zullen de vloeistoffen nooit dezelfde tint bezitten, maar zal men wel een fout van 25 % kunnen maken. Verder zal de onnauwkeurigheid nog grooter zijn, wanneer men niet met heldere vloeistoffen werkt, of wanneer de vergelijkingsvloeistof uit een andere stof bestaat. Daarom heb ik eenige digestievloeistoffen onderling vergeleken met den colorimeter van *Grützner* en met dien van *Stanford*. Voor een volledige beschrijving van het toestel verwijzend naar de mededeeling van *Stanford*, zal ik het principe vermelden, waarop het gebaseerd is.

In twee bakjes worden de te onderzoeken vloeistof en de vergelijkingsvloeistof gebracht. Door verdunnen wordt de donkerder gekleurde vloeistof van dezelfde kleur gemaakt als de andere. Men bepaalt derhalve hoeveel malen hiervoor gene vloeistof moest verdund worden.

Is het punt overschreden, dan kan men bovendien weer de andere vloeistof verdunnen.

Ik nam als standaardvloeistof een met aq. dest. 400 maal verdunde 5 % oplossing van karmijn in een verzadigde oplossing van lithiumcarbonaat. In het eene bakje deed ik 2 cM³ van deze oplossing, in het andere 2 cM³ digestievloeistof, waarvan ik de kleursterkte wilde bepalen, uitgedrukt in de 5 % karmijnoplossing.

Moest ik bv. door de pipet aan de 2 cM³ 400 × verdunde 5 % karmijnoplossing 3.6 cM³ aq. dest. (ik verdunde hiermede) toevoegen, opdat deze dezelfde kleur had, als de 2 cM³ digestievloeistof, dan kwam de kleur van de laatste dus overeen met een $\left[\left(\frac{3.6 + 2}{2}\right) \times 400 =\right]$ 1120 maal verdunde oplossing van de 5 % karmijnoplossing.

Proef 12

I.	1 cM³ 0.04 % oplossing van hondenpepsine onverdund	9 cM³ 0.1 % HCl en 50 mgr. karmijnfibrine. 10 min. laten zwellen.
II.	" " " " 2 × verdund	
III.	" " " " 3 × "	
IV.	" " " " 4 × "	

Digestie bij kamertemperatuur.

In het wigvormig glas van den colorimeter van *Grützner* deed ik een

1) *Stanford*: ein Verdünnungscolorimeter nebst Bemerkungen über die Versuchsfehler des kolorimetrischen Vergleiches: Zeitschr. für physiol. Chemie. Bd. 87. 1913. S. 159.

2) beschrijving van het toestel in: *Brusch und Schittenhelm* Lehrbuch klinischer Untersuchungsmethoden. Theil II. 1914.

400 maal verdunde oplossing van 5 % karmijnoplossing; in het eene bakje van den colorimeter van *Stanford* 2 cM³ digestievloeistof, in het tweede 2 cM³ van 400 of 800 × verdunde 5 % karmijnoplossing[1]), die ik met aq. dest. verdunde.

Tabel

Pepsine:	IV.	III.	II.	I.	*Colorimeter.*
na 10 min.	0.45	0.80	1.1	2.1	van *Grützner.*
„ 20 „	1.80	2.7	3.2	4.85	
„ 10 „	4040 × verdund	2460 ×	1940 ×	950 ×	van *Stanford.*
„ 20 „	1800 × „	960 ×	880 ×	880 ×	

In de volgende tabel heb ik de vertering voor pepsine-concentratie IV = 1 gesteld, en hieruit de digestie van de overige berekend.

Tabel

Pepsine.	I.	II.	III.	IV.	*Colorimeter.*
na 10 min.	4.6	2.44	1.78	1	*Grützner.*
	4.25	2.06	1.64	1	*Stanford.*
na 20 min.	2.7	1.8	1.5	1	*Grützner.*
	3.1	2.05	1.84	1	*Stanford.*

Conclusie: Wanneer de digestievloeistoffen donkerder van kleur worden, dan zien we, dat we bij de bepalingen met den colorimeter van *Stanford* hoogere waarden vinden, dan met den colorimeter van *Grützner.* Daar de bepalingen met den colorimeter van *Stanford* juister zijn, mogen we dus eruit concludeeren, dat bij de bepalingen met den colorimeter van *Grützner* de getallen voor de sterkere pepsine-concentraties te laag zullen zijn,

Proef 13

I 1 cM³ 0.4 % opl. v. hondenpepsine-onverdund
II „ „ „ 2 × verdund
III „ „ „ 3 × „
VI „ „ „ 4 × „

} 9 cM³ 0.1 % HCl en 50 mgr. karm. fibrine 10 min. laten zwellen.

Digestie bij kamertemperatuur

Tabel

Pepsine . .	I.	II.	III.	IV.	*Colorimeter.*
Na 5 min. .	1.0	0.70	0.55	0.45	van *Grützner.*
„ 10 „ .	2.30	1.30	0.80	0.60	
„ 5 „ .	2360 × verdund	4048 ×	6208 ×	7294 ×	„ *Stanford.*
„ 10 „ .	1340 × „	2080 ×	4340 ×	5904 ×	

1) Voor de donkere digestievloeistoffen nam ik de minder sterk verdunde karmijnoplossingen.

Of weer digestie van IV = 1, dan:

Tabel

Pepsine . .	I.	II.	III.	IV.	*Colorimeter.*
Na 5 min.	2.2	1.5	1.22	1.0	van *Grützner.*
	3.1	1.8	1.20	1.0	„ *Stanford.*
„ 10 „	3.83	2.2	1.33	1.0	„ *Grützner.*
	4.40	2.8	1.36	1.0	„ *Stanford.*

Conclusie: Voor de sterkere pepsine-concentraties vonden wij weer hoogere waarden met den colorimeter van *Stanford.*

Deze verschillen zijn echter te gering, om op het vroeger beschreven achterblijven der sterkere pepsine-oplossingen veel invloed te hebben. Daar verder het verschil met den colorimeter van *Grützner* niet groot is, meen ik, dat deze voor dergelijke proeven te verkiezen is boven die van *Stanford.* De laatste is toch kostbaarder en veel omslachtiger in het gebruik. Men kan met *Grützner's* colorimeter vele bepalingen doen tegen één met die van *Stanford.* Worden bovendien de digestie-vloeistoffen te donker, zoodat de digestie meer bedraagt, dan de schaalverdeeling van *Grützner's* colorimeter aangeeft bij een bepaalde standaardvloeistof, dan kan men gemakkelijk de digestie-vloeistof even verdunnen.

METHODE VAN VOLHARD

Ik gebruikte voor de methode van *Volhard* een zure caseine-oplossing, bereid naar het voorschrift van *Küttner*[1]).

De caseine bereidde ik naar de methode van *Hammarsten* uit melk, om zeker te zijn van een zuiver praeparaat.

Ik liet 25 gram caseine met 100 cM³ water van 50° C. een ½ uur in een waterbad van 50° C. staan, vulde daarna met water van 50° C. aan tot 250 cM³. Nu deed ik al schuddend erbij 35 cM³ normaal zoutzuur en water van 50° C. Na het afkoelen werd de hoeveelheid vloeistof met water op 1 L. gebracht. De caseine-oplossing had dus een sterkte van 2.5 % en was een weinig opalesceerend.

Voor elke proef nam ik een aantal kolfjes, waarin 100 cM³ van de oplossing van caseine, x cM³ oplossing van pepsine en (50—x) cM³ zoutzuur van dezelfde sterkte, als waarin de pepsine was opgelost. In één der kolfjes werd natuurlijk geen pepsine gebracht, om te bepalen de aciditeit van het filtraat, na het neerslaan van de caseine.

Wilde ik de digestie stop zetten, dan bracht ik in ieder kolfje 50 cM³ eener 20 % natriumsulfaatoplossing en filtreerde de onverteerde caseine af. Van het filtraat bepaalde ik den zuurgraad met 0.097 *n.* NaOH en phenolphtaleine als indicator. Het verschil in aciditeit tusschen kolfjes met en zonder oplossing van pepsine was de maatstaf voor de digestie.

Immers de caseine neemt, wanneer zij neergeslagen wordt, van het zoutzuur een bepaalde hoeveelheid mede en laat dus hiervan des te meer in het filtraat achter, naarmate meer caseine verteerd is.

In mijn tabellen geef ik het toenemen van het zuurgehalte, uitgedrukt in cM³ 0.097 *n.* NaOH en berekend voor de totale hoeveelheid vloeistof van 200 cM³.

De vertering had plaats bij 37° C.

Proef 1

In kolfje A: 100 cM³ opl. v. caseine + 50 cM³ 0.1 % HCl

„	„	B:	„	„	„	„	+ 49	„	„	+ 1 cM³ v. een 0.02 % opl. v. varkenspepsine in 0.1 % HCl
„	„	C:	„	„	„	„	+ 48	„	„	+ 2 „
„	„	D:	„	„	„	„	+ 46	„	„	+ 4 „

1) *Küttner*: l. c.

Ik nam telkens 4 kolfjes en liet deze resp. 1, 2, 4, 5 en 6 uur digereeren. De verhouding der pepsine-concentraties was: B : C : D = 1 : 2 : 4.

In de tabel 1 heb ik gerangschikt onder:

Gevonden: de bepaalde vermeerdering van den zuurgraad;

t : id., berekend uit de digestie na 1 uur naar den regel van de evenredigheid met den tijd;

$\sqrt{t}$: id., berekend uit evenredigheid met den wortel van den tijd;

p : het toenemen van den zuurgraad, berekend uit de digestie van de zwakste pepsine-concentratie naar de evenredigheid met de laatste;

$\sqrt{p}$: id., maar volgens den regel van de evenredigheid met de wortel van de pepsine-concentratie.

We zagen immers bij de bespreking der pepsine-regels, dat bij de methode van *Volhard* verschillende regels door de onderzoekers waren opgesteld.

Tabel 1

Pepsine:	*D.*					*C.*					*B.*		
	Gevonden:	*t.*	$\sqrt{t}$	*p.*	$\sqrt{p}$	*Gevonden:*	*t.*	$\sqrt{t}$	*p.*	$\sqrt{p}$	*Gevonden:*	*t.*	$\sqrt{t}$
na 1 uur:	10.35	10.35	10.35	11.0	5.50	6.15	6.15	6.15	5.50	3.85	2.75	2.75	2.75
„ 2 „	15.05	20.70	14.49	26.2	13.10	9.55	12.30	8.61	13.1	9.21	6.55	5.50	3.85
„ 3 „	17.75	31.05	17.59	31.0	15.50	11.35	18.45	10.46	15.5	10.85	7.75	8.25	4.68
„ 4 „	21.45	41.40	20.70	36.6	18.30	14.75	24.60	12.30	18.30	12.81	9.15	11.00	5.50
„ 5 „	23.45	51.75	22.77	45.8	22.9	17.15	30.75	13.53	22.9	16.03	11.45	13.75	6.05
„ 6 „	—	—	—	—	—	18.55	36.90	14.64	24.3	17.01	12.15	16.50	6.55

Conclusie: α. *wat den tijd betreft*: We zien, dat behalve voor B na 2 uur, steeds minder verteerd is, dan men zou verwachten, wanneer de vertering evenredig was met den tijd, gedurende welken gedigereerd was, maar voortdurend meer, dan uit de evenredigheid met den wortel van den tijd verwacht zou worden. Voor D is dit laatste slechts weinig meer.

β. *wat de concentratie van de pepsine betreft*: dat, behalve voor C na 1 uur, steeds minder verteerd is, dan men zou berekenen naar evenredigheid met de hoeveelheid pepsine, maar meer dan naar de evenredigheid met den wortel uit de pepsineconcentratie.

Proef 2

In A: 100 cM³ opl. v. caseine + 50 cM³ 0.1 % HCl
„ B: „ „ „ „ + 49 „ „ + 1 cM³
„ C: „ „ „ „ + 48 „ „ + 2 „
„ D: „ „ „ „ + 46 „ „ + 4 „

} 0.02 % opl. van varkenspepsine.

Digestie bij 38° C.

Tabel 2

Pepsine . .	*D.*					*C.*					*B.*		
	Gevonden:	*t*	$\sqrt{t}$	*p*	$\sqrt{p}$	*Gevonden:*	*t*	$\sqrt{t}$	*p*	$\sqrt{p}$	*Gevonden:*	*t*	$\sqrt{t}$
Na 1 uur .	9.2	9.2	9.2	9.2	4.6	4.2	4.2	4.2	4.6	3.22	2.3	2.3	2.3
„ 2 „ .	14.4	18.4	12.88	14.0	7.0	6.2	8.4	5.88	7.0	4.90	3.5	4.6	3.22
„ 4 „ .	20.0	36.8	18.4	30.4	15.2	12.2	16.8	8.4	15.2	10.64	7.6	9.2	4.6
„ 6 „ .	22.7	55.2	22.08	37.6	18.8	17.0	25.2	11.08	18.8	13.16	9.4	13.8	5.52
„ 8 „ .	26.1	73.6	25.76	42.0	21.0	18.5	33.6	11.76	21.0	16.10	11.5	18.4	6.44

In deze proef komt de hoeveelheid zuur (HCl), die gebonden is a. d. caseine van 100 cM³ oplossing, overeen met 11 cM³ 0.097 n. NaOH.

Conclusie: α. *Wat den tijd betreft*: er is voortdurend minder, dan naar den regel van de evenredigheid met den tijd, maar meer verteerd, dan naar den wortel van den tijd zou verwacht worden. Ook in deze proef is de digestie voor D bijna evenredig met den wortel uit den tijd.

β. *wat de pepsineconcentratie aangaat*: is weer steeds meer verteerd, dan indien de regel van *Schütz* geldig was, maar minder, als de regel van de directe evenredigheid van kracht was. Voor C en D is na 1 en 2 uur de digestie ± evenredig met de pepsineconcentratie.

Het heeft geen zin meer proeven te vermelden, daar ze allen hetzelfde beloop hebben. We zien derhalve bij de methode geen bepaalde regelmaat, noch wat den tijd, noch wat de pepsineconcentratie betreft. We kunnen natuurlijk toevallig uitkomsten verkrijgen, waarbij een bepaalde regel schijnt te bestaan.

Het was reeds a priori niet waarschijnlijk, dat bij de methode van *Volhard* een eenvoudige regel zou bestaan. Immers het toenemen der aciditeit is niet alleen het gevolg van het vrijkomen van zoutzuur uit de gesplitste caseine, maar moet ook ten deele zijn oorzaak vinden in het ontstaan van alkali-bindende spitsingsproducten van het eiwit.

We weten hoeveel zoutzuur is toegevoegd om de zure caseineoplossing te bereiden. Laten we de digestie eenigen tijd duren, dan wordt de vermeerdering van den zuurgraad grooter gevonden, dan alleen uit de hoeveelheid zoutzuur, die door de caseine gebonden was, kan worden verklaard. In proef 2 is deze hoeveelheid = 11 cM³ 0.097 n. NaOH.

Ik zag, dat bij langduriger digestie de omslag van den indicator minder scherp werd.

We kunnen, bv. in proef 2, nog letten op het toenemen der aciditeit, wanneer we *p* en *t* zoodanig kiezen, dat de producten *p t* gelijk zijn.

Stel in deze proef de pepsineconcentratie van D, C en B als 4, 2 en 1 en den tijd in uren, dan vinden we voor $p = 1$ en $t = 2$ een vermeerdering van den zuurgraad van 3.5 en voor $p = 2$ en $t = 1$ een vermeerdering van 4.2 etc. zie tabel.

Tabel 3

p t	*1.*	*2.*	*4.*	*6.*	*8.*
p = 1	2.3	3.5	7.6	9.4	11.5
p = 2	—	4.2	6.2	—	12.2
p = 4	—		9.2	—	14.4

We zien, dat bijna steeds bij de hoogere waarden voor p het toenemen van den zuurgraad grooter is, dan bij kleinere waarden. Hetzelfde vermeldden o.a. *Löhlein* [1]) en *Schapiro* [2]). Het tegenovergestelde zagen we bij de methode van *Grützner.*

Op grond van mijn proeven zou ik me dus bij geen der onderzoekers kunnen aansluiten.

Het meest komen mijn uitkomsten overeen met die van *Küttner.*

Toch zag ik ook niet, hetgeen *Küttner* uit zijn proeven wilde afleiden, dat, wanneer volgens berekening zuur nog gebonden is aan caseine, dan de regel der directe evenredigheid met de pepsineconcentratie zou opgaan. Evenmin zou ik, zooals ook hij wilde, bepaalde grenzen durven trekken, waaronder meer verteerd zou worden dan men zou berekenen uit directe evenredigheid met de pepsineconcentratie, waartusschen de regel der directe evenredigheid zou opgaan en waarboven de regel van *Schütz* zou heerschen.

Afgezien van het bewerkelijke van de methode, geloof ik dus, dat, op grond van het geheel ontbreken van eenige regelmaat in de uitkomsten, de methode van *Volhard* voor het quantitatief onderzoek van maagsappen of oplossingen van pepsine ongeschikt is.

---

1) *Löhlein*: l. c.
2) *Schapiro*: l. c.

METHODE VAN SÖRENSEN

Ook volgens de methode van *Sörensen*[1]) heb ik eenige proeven genomen.

Ik liet oplossingen van pepsine in verschillende verdunning werken op een suspensie van fijngewreven, gestold kippeneiwit. Om het eiwit gelijkmatig door de digestiemengsels te verdeelen, liet ik de vertering geschieden in fleschjes, die roteerden in een waterthermostaat op 37° C.

Op verschillende tijden nam ik kleine hoeveelheden uit de fleschjes, waarop ik volgens de methode van *Sörensen* met phenolphtaleine titreerde. Zelfs na een vertering van 11 uur was het toenemen der carboxylgroepen zeer gering, terwijl menigmaal tusschen de verschillende tijden van digestie in 't geheel geen verschil werd gevonden. Daarom zal ik geen uitvoerige beschrijving van de methode geven.

Sörensen[2]) zelf heeft later bij zijn studie over de beteekenis van de waterstofionenconcentratie bij enzym-processen zijn eigen methode niet gebruikt in aanmerking nemend, „dass eben bei der Pepsinspaltung verhältnissmässig wenige Peptidbindungen gelöst werden, infolge dessen der Umfang der Proteolyse, durch Formaltitrierung gemessen, sich als nur sehr geringfügig erweist".

Voor quantitatief onderzoek van maagsappen zal derhalve de methode van *Sörensen* geen bruikbare resultaten opleveren.

---

1) *Sörensen*: l. c. in „Comptes-rendus des travaux du Laboratoire de Carlsberg — 7me Volume — 1re Livraison, 1907."

2) *Sörensen*: l. c. S. 289 in Biochem. Zeitschrift. Bd. XXI.

METHODE VAN FULD-LEVISON.

Voor de edestinemethode heb ik gebruik gemaakt van een $1^0/_{00}$ oplossing van edestine in $^1/_{33}$ normaal zoutzuur ($= 0{,}11^0/_0$). Een afgewogen hoeveelheid edestine vermengde ik met een deel van het zoutzuur in een mortiertje, daarna deed ik de noodige hoeveelheid zoutzuur erbij. Nu kookte ik de oplossing even op, omdat vermeld wordt, dat de oplossing dan beter te bewaren is. Wilde ik de oplossing langen tijd bewaren, dan deed ik een weinig toluol erbij.

Om op bepaalde tijden te controleeren, of al de edestine was verteerd, nam ik een verzadigde oplossing van NaCl. Met de oplossing van keukenzout kreeg ik, wanneer deze voorzichtig langs den wand van het reageerbuisje was toegevoegd [1]), een duidelijken ring van onverteerde edestine, op de grens van keukenzoutoplossing en digestiemengsel. Nooit zag ik, dat de oplossing van NaCl in een oplossing van pepsine of in verdund maagsap van den hond een troebelheid te voorschijn riep, zooals *Indemans* [2]) in zijn proeven waarnam. Daarom, en omdat ik met ammoniak niet zulke scherp begrensde troebelheden zag, heb ik geen gebruik gemaakt van het laatste.

Reeds *Fuld* en *Levison* [3]) hebben gezien, dat de hoeveelheid NaCl-oplossing, die in een digestiemengsel een troebelheid kan veroorzaken, wisselt met de hoeveelheid onverteerde edestine. Het is duidelijk, dat het daarom noodig is bij vergelijkend onderzoek steeds dezelfde hoeveelheid NaCl-oplossing te gebruiken en niet, zooals sommigen gedaan hebben, aan het buisje met de grootere hoeveelheid pepsine ook meer toe te voegen, dan aan de buisjes met minder pepsine.

Bovendien zag ik, dat het noodig is altijd den stand van vertering op hetzelfde oogenblik na het toevoegen van de oplossing van NaCl te controleeren. Ik koos het oogenblik, terstond na het toevoegen van de

---

1) *Fuld* en *Levison* hebben ook wel NaCl in substantie gebruikt. Ze schudden dan de vloeistof en zagen of een troebelheid was ontstaan.

2) *Indemans*: l.c.

3) *Fuld* en *Levison*: l.c.

NaCl-oplossing, terwijl ik tegen een donkeren achtergrond met opvallend licht de reageerbuisjes bekeek. Ik noteerde dan:

met — = geen troebelheid.
\+ = zwak-troebele ring.
\++ = een duidelijke ring van onverteerde edestine.

Ik nam n.l. waar, dat soms geen troebelheid te zien was terstond na de vereeniging van NaCl-oplossing en verteringsmengsel, wel na verloop van eenigen tijd.

Zooals ik reeds meermalen betoogde, is het noodig de proeven altijd te nemen onder dezelfde omstandigheden, als temperatuur, zuurgraad, etc.

Ik heb eerst proeven genomen, waarbij ik, zooals dikwijls is gedaan, in een reeks reageerbuisjes 2 cM³ 1‰ oplossing van edestine bracht, daarna 1 cM³ oplossing van pepsine en nu een bepaalden tijd bij kamertemperatuur liet digereeren. Ik controleerde den stand der digestie door aan elk buisje 2 cM³ eener verzadigde NaCl-oplossing toe te voegen.

Ik zag echter, dat vooral bij de sterkere oplossingen van pepsine (0.08 % zoowel van hondenpepsine als van varkenspepsine) terstond in de oplossingen van de edestine een opalescentie ontstond, die ook na langdurige digestie (bv. 60 minuten) niet verdween [1]). Dan was natuurlijk door toevoegen van NaCl-oplossing moeilijk het ontstaan van een troebelheid te controleeren. Wanneer ik de oplossing van pepsine verhitte tot koken, dan ontstond een neerslag. Filtreerde ik dit af en voegde ik het filtraat aan bv. 2 cM³ 1‰ edestine-oplossing toe, dan bleef de oplossing helder. De troebelheid ontstond derhalve onder invloed van de pepsine.

Daarom ging ik er toe over de oplossing van edestine sterker te verdunnen.

Ik bracht in een reeks reageerbuisjes telkens:

1e. 1 cM³ 1‰ oplossing van edestine.
2e. 3 cM³ 1‰ HCl.
3e. 1 cM³ oplossing van pepsine, in verschillende verdunningen (meestal in 0.1 % HCl opgelost en verdund).

Na bepaalde tijden controleerde ik den stand der digestie door in ieder buisje 2 cM³ eener verzadigde NaCl-oplossing toe te voegen.

---

1) *Pekelharing* (Aanteekeningen over Pepsine: Onderzoekingen v. h. Physiol. laboratorium te Utrecht 5e Reeks V. blz. 284 en 285) zag ook door maagsap van den hond en door kunstmatig maagsap in opgelost, gekristalliseerd albumine een neerslag ontstaan. Dit loste echter op in een overmaat van eiwit, in een weinig NaCl en bij neutralisatie van de vloeistof. Gecentrifugeerd loste het niet noemenswaard op in 0.2 % HCl maar wel spoedig door digestie bij 37° C. Een dergelijk neerslag zag hij eveneens door maagsap ontstaan in caseine, opgelost in 0.2 % HCl. Ook dit werd snel verteerd bij 37° C. Pekelharing was geneigd dit neerslag te beschouwen als een verbinding van het eiwit met de pepsine, als eerste tempo van de digestie.

Altijd had de digestie plaats bij kamertemperatuur.

We kunnen gemakkelijk met de methode nagaan, of voor haar de regel van *Brücke* opgaat.

We hebben slechts voor verschillende verdunningen eener oplossing van pepsine den tijd te bepalen, waarin de 1 cM³ edestine onder de gegeven proefvoorwaarden zóódanig veranderd is, dat door de 2 cM³ NaCl-oplossing geen troebelheid meer ontstaat. Gaat de regel op, dan zal de tijd, waarin dit geschiedt, omgekeerd evenredig zijn aan de concentratie van de pepsine.

Proef 1

Ik deed in een reeks reageerbuisjes 1 cM³ 1 ‰ oplossing van edestine, 3 cM³ 1 ‰ HCl en 1 cM³ 0.04 % oplossing van varkenspepsine (in 0.1 % HCl). Op de bekende wijze controleerde ik na bepaalde tijden de vertering; digestie bij 18° C.

buisje I : na 1 minuut : +
„ II : „ 2 „ : —
„ III : „ 3 „ : —
„ IV : „ 4 „ : —

Resultaat: verteerd na 2 min.

Op precies dezelfde wijze maakte ik een tweede serie, maar bracht in ieder buisje ½ cM³ van een 0.04 % oplossing van pepsine + ½ cM³ 0.1 % HCl.

buisje I : na 2 min. : +
„ II : „ 3 „ : +
„ III : „ 4 „ : —
„ IV : „ 5 „ : —

Resultaat: verteerd na 4 min.

In de derde reeks: ⅓ cM³ van de 0.04 % oplossing van pepsine + ⅔ cM³ 0.1 % HCl.:

buisje I : na 4 min. : +
„ II : „ 5 „ : +
„ III : „ 6 „ : —
„ IV : „ 7 „ : —
„ V : „ 8 „ : —
„ VI : „ 9 „ : —

Resultaat: verteerd na 6 min.

In de 4e serie ¼ cM³ van de oplossing van pepsine + ¾ cM³ 0.1 % HCl

buisje I : na 7 min. : +
„ II : „ 8 „ : + (zwak).
„ III : „ 9 „ : —
„ IV : „ 10 „ : —
„ V : „ 11 „ : —

Resultaat: verteerd na 9 min.

In de 5e reeks : $^1/_6$ cM³ 0.04 % oplossing van pepsine + $^5/_6$ cM³ 0.1 % HCl.

Buisje	I : na	9 min.	: +	Resultaat : Verteerd na 13 minuten.
„	II : „	10 „	: +	
„	III : „	11 „	: +	
„	IV : „	12 „	: + (zwak)	
„	V : „	13 „	: —	
„	VI : „	14 „	: —	

De verhouding der concentraties van de pepsine is in deze 5 serie's = $1 : {}^1/_2 : {}^1/_3 : {}^1/_4 : {}^1/_6$.

We kunnen dus de volgende tabel samenstellen :

Tabel 1

Verhouding der pepsineconc.	*Verteerd na:*	*P . t*
1	2 minuten.	2
$^1/_2$	4 „	2
$^1/_3$	6 „	2
$^1/_4$	9 „	$2^1/_4$
$^1/_6$	13 „	$2^1/_6$

Conclusie : de regel van *Brücke* is geldig. De kleine afwijking is allicht het gevolg van een kleine onnauwkeurigheid in de methodiek.

Proef 2

Deze proef was precies op dezelfde wijze ingericht als de vorige proef. Weer nam ik een 0.04 % oplossing van varkenspepsine (ander praeparaat als in de vorige proef) en verdunde met 0.1 % HCl 1, 2, 3, 4 en 6 maal in de verschillende reeksen.

Tabel 2

Pepsineconcentratie :	*Verteerd na :*	*P . t*
1	3 minuten.	3
$^1/_2$	6 „	3
$^1/_3$	9 „	3
$^1/_4$	13 „	$3^1/_4$
$^1/_6$	18 „	3

Conclusie : de regel van *Brücke* is geldig.

Ik heb nog tal van proeven genomen, waarbij ik telkens een reeks buisjes nam met dezelfde hoeveelheden oplossing van edestine, maar met telkens 1 cM³ maagsap of oplossing van pepsine in verschillende verdun-

ningen. Na resp. 5, 10 of 20 minuten bij kamertemperatuur te hebben laten digereeren, bepaalde ik bij welke sterkste verdunning van de oplossing van pepsine met de NaCl-oplossing geen troebele ring meer was te zien.

Proef 3

In elk buisje: 1 cM³ 1 ‰ oplossing van edestine, 3 cM³ 1‰ HCl en 1 cM³ 0.04 % oplossing van hondenpepsine nl.:

in I: 1 cM³ onverdund.
„ II: 1/2 „ „ + 1/2 cM³ 0.2 % HCl.
„ III: 1/3 „ „ + 2/3 „ „
„ IV: 1/4 „ „ + 3/4 „ „
„ V: 1/5 „ „ + 4/5 „ „

Tabel 3

Pepsine:	I.	II.	III.	IV.	V.	*Verteerd door pepsineconcentratie.*
Na 5 min.:	—	+	+ +	+ +	+ +	*1*
„ 10 „	—	—	+	+ +	+ +	1/2
„ 20 „	—	—	—	—	+	1/4
„ 30 „	—	—	—	—	—	—

Conclusie: ook in deze proef gaat derhalve de regel van *Brücke* op.

Proef 4

In deze proef nam ik telkens 1 cM³ maagsap van den hond in verschillende verdunningen. Ik bepaalde den zuurgraad van het maagsap. Deze bedroeg 0.58 %. Ik verdunde daarom dit maagsap eerst 2.9 maal met aqua dest. en verder nog eens 2, 3, 4, 5, 6, 7 en 8 maal met 0.2 % HCl. De concentraties der pepsine in de buisjes I, II, III, IV, V, VI, VII en VIII verhielden zich dus als 1 : 1/2 : 1/3 : 1/4 : 1/5 : 1/6 : 1/7 : 1/8.

Tabel 4

Maagsap .	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.
Na 5 min.:	—	—	—	+	+ +	+ +	+ +	+ +
„ 10 „	—	—	—	—	—	—	+	+ +
„ 15 „	—	—	—	—	—	—	—	—

Conclusie: Na 5 min. is de edestine verteerd door 1 cM³ van het maagsap, dat 3 × 2.9 = 8.7 maal verdund was; na 10 minuten door 1 cM³ maagsap, dat 6 × 2.9 = 17.4 maal verdund was.

We mogen dus m.i. uit deze proeven concludeeren, dat voor de methode van *Fuld-Levison* de regel van *Brücke* opgaat.

Men zou in den tijd, gedurende welken gedigereerd wordt, een maatstaf kunnen hebben voor de sterkte van het maagsap of de oplossing van de pepsine. Men zou in dit geval natuurlijk precies onder dezelfde omstandigheden zijn proeven moeten nemen. Het zal b.v. niet geoorloofd zijn, al naar de sterkte van het maagsap te experimenteeren met 1% of 1‰ edestineoplossing, en met onverdund of verdund maagsap, zooals b.v. *Indemans* [1]) aanraadt.

Omdat men in de proeven de hoeveelheid eiwit niet kan varieeren, ten minste op eenvoudige wijze, zonder allerlei factoren te wijzigen, is het met de methode van *Fuld-Levison* niet mogelijk te onderzoeken of andere pepsineregels, dan die van *Brücke* geldig zijn. Vroeger heb ik de onderzoekingen, die dit wel trachten te doen, m.i. voldoende besproken.

Ik heb getracht, zooals door verschillende onderzoekers gedaan is, met behulp van de edestinemethode de sterkte van het hondenmaagsap of van een oplossing van pepsine uit te drukken in die van een oplossing van pepsine van bekende concentratie.

Hiertoe maakte ik van beide een serie verdunningen, deed hierbij een oplossing van edestine en bepaalde na denzelfden tijd welke zwakste oplossing in beide reeksen de edestine verteerd had.

Deze bevatten dan dezelfde hoeveelheid enzym.

Zoo heb ik in de volgende proef willen bepalen de sterkte van hondenmaagsap, uitgedrukt in een oplossing van hondenpepsine.

Proef 5

Ik had een oplossing van hondenpepsine van 0.04% in 0.2% HCl. Hiervan bracht ik in:

I:	1 cM³	onverdund.	
II:	½ „	„	+ ½ cM³ 0.2% HCl.
III:	⅓ „	„	+ ⅔ „
IV:	¼ „	„	+ ¾ „
V:	⅕ „	„	+ ⅘ „
VI:	⅙ „	„	+ ⅚ „

Verder in elk buisje 1 cM³ 1‰ oplossing van edestine en 3 cM³ 0.1% HCl. Digestie bij kamertemperatuur.

---

1) *Indemans* l.c.

De vertering werd gecontroleerd met 2 cM³ verzadigde oplossing van NaCl.

Tabel 5a

Pepsine:	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.
na 5 min.:	—	++	++	++	++	++
„ 10 „	—	—	+	++	++	++
„ 20 „	—	—	—	—	+	++
„ 30 „	—	—	—	—	—	—

Resultaat: de edestine was dus verteerd:

na 5 min.: door 1 cM³ 0.04 % oplossing = 0.4 mgr. pepsine.
„ 10 „ „ ½ „ „ „ = 0.2 „ „
„ 20 „ „ ¼ „ „ „ = 0.1 „ „
„ 30 „ „ ⅙ „ „ „ = 0.067 „ „

Het hondenmaagsap had weer een zuurgehalte van 0.58 %. Ik verdunde het daarom eerst 2.9 maal met aq. dest., verder met 0.2 % HCl.

Ik bracht in I: 1 cM³ 2.9 × verdund maagsap.
II: „ 2.9 × 2 „ „
III: „ 2.9 × 3 „ „
IV: „ 2.9 × 4 „ „
V: „ 2.9 × 5 „ „
VI: „ 2.9 × 6 „ „
verder in elk weer 1 cM³ 1 ‰ edestine-opl. + 3 cM³ 0.1 % H Cl.

Tabel 5b

Maagsap:	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.
na 5 min.	—	—	—	+	++	++
„ 10 „	—	—	—	—	—	—
„ 20 „	—	—	—	—	—	—

Conclusie: door 1 cM³ (2.9 × 3) voudig verdund maagsap is de edestine verteerd na 5 minuten, en door 1 cM³ (2.9 × 6) voudig verdund maagsap na 10 minuten, of:

1 cM³ 8.7-voudig verdund maagsap bevat 0.4 mgr. hondenpepsine en 1 cM³ 17.4-voudig verdund maagsap 0.2 mgr pepsine. De sterkte van het maagsap is derhalve in % uitgedrukt = 0.348 % oplossing van hondenpepsine. Immers 1 cM³ 8.7 × verdund = 0.4 mgr. pepsine.
„ onverdund = 3.48 „ „ .
100 „ „ = 348 „ „ .

Hetzelfde vinden we, wanneer we de sterkte berekenen uit de digestie na 10 minuten.

Dat werkelijk deze bepaling, althans bij benadering juist is, kunnen we afleiden uit het feit, dat een contrôle-bepaling met de methode van *Mett* de sterkte van het maagsap deed bepalen op een 0.371 % tot 0.336 % oplossing van hondenpepsine.

Proef 5*b* (methode van *Mett*).

In A: 10 cM³ maagsap 2.9-voudig verdund met aq. dest.
„ B: 10 „ 0.04 % oplossing van hondenpepsine.

Ik bracht in beiden 2 buisjes van *Mett* en liet 5 uur en 22½ uur digereeren in rust.

Tabel 5c

Pepsine:	A:	B:
na 5 uur:	2.02 mM	1.13 mM
„ 22½ „	9.33 „	5.45 „

Volgens den regel van *Borissow* verhouden dus de concentraties van de pepsine zich: na 5 uur: $A : B = (2.02)^2 : (1.13)^2$ of

$$A = 3.2\ B.$$

Derhalve is het maagsap, onverdund, 3.2 × 2.9 sterker dan B, of in % van de oplossing van hondenpepsine uitgedrukt:
Maagsap = 3.2 × 2.9 × 0.04 % = 0.3712 % oplossing van hondenpepsine.

Dezelfde berekening volgend uit de digestie na 22½ uur:

$$\text{Maagsap (onverdund)} = \frac{(9.33)^2}{(5.45)^2} \times 2.9 \times 0.04\ \% = 0.3364\ \%$$ oplossing van hondenpepsine.

Ik heb nu ook in tal van proeven de sterkte van een oplossing van varkenspepsine uitgedrukt in die van een oplossing van hondenpepsine. We kwamen echter tot het verrassende resultaat, dat volgens de edestine-methode de oplossing van de varkenspepsine (0.04 %) zwakker digereerde, dan die van de hondenpepsine (0.04 %), maar sterker naar de methode van *Mett*.

Proef 6a

Oplossing van hondenpepsine en varkenspepsine, beiden 0.04 %.

In I: 1 cM³ onverdund
„ II: „ 2 × verdund
„ III: „ 3 × „
„ IV: „ 4 × „
„ V: „ 5 × „

} + 1 cM³ 1 ‰ edestine opl. en 3 cM³ 1 ‰ HCl.

Tabel 6a

Hondenpepsine:	I.	II.	III.	IV.	V.
Na 5 min.: . .	—	+	+ +	+ +	+ +
„ 10 „ . .	—	—	+	+ +	+ +
„ 15 „ . .	—	—	—	+	+ +

Conclusie: na 5 min.: 0.4 mgr.
„ 10 „ : 0.2 „
„ 15 „ : 0.13 „
} pepsine heeft de edestine verteerd.

Tabel 6b

Varkenspepsine: . .	I.	II.	III.	IV.	V.
Na 5 min.	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
„ 10 „	—	+	+ +	+ +	+ +
„ 15 „	—	—	+ +	+ +	+ +

Conclusie: na 10 min.: 0.4 mgr.
na 15 min.: 0.2 mgr.
} varkenspepsine heeft de edestine verteerd.

Vergelijken we dit met de oplossing van hondenpepsine, dan zou dus na 10 min. 0.4 mgr. varkenspepsine overeenkomen met 0.2 mgr. hondenpepsine en na 15 min. 0.2 mgr. varkenspepsine met 0.13 mgr. hondenpepsine. Of na 10 min. 0.04 % opl. van varkenspepsine = 0.02 % opl. v. hondenpepsine.
Na 15 min. 0.04 % „ „ „ „ = 0.026 % „ „ „ „

Naar de methode van *Mett* vond ik echter, dat de 0.04 % oplossing van varkenspepsine overeenkwam met een 0.208 %—0.185 % oplossing van hondenpepsine.

Proef 6b (methode van *Mett*)

In A: 10 cM³ 0.04 % opl. v. hondenpepsine.
„ B: 10 cM³ 0.02 % „ „ varkenspepsine.
In beide 2 buisjes van *Mett*. Vertering in rust.

Tabel 6c

Pepsine: . .	A.	B.
Na 5 uur:	1.18 mM	1.90 mM
„ 22½ „ :	5.38 „	8.17 „

Volgens den regel van *Borissow* is derhalve de verhouding der pepsineconcentraties:

na 5 uur: B : A = $(1.90)^2 : (1.18)^2$ of B = 2.6 A.
„ 22½ „ : B : A = $(8.17)^2 : (5.38)^2$ of B = 2.31 A.

Berekenen we dus de sterkte van een 0.04 % oplossing van varkenspepsine, uitgedrukt in een oplossing van hondenpepsine, dan vinden we dat:

Na 5 uur de 0.04 % opl. v. varkenspepsine = 2.6 × 2 × 0.04 % opl. v. honden-pepsine = 0.208 %.

Id. na $22^1/_2$ uur: 0.04 % oplossing van varkenspepsine = 2.31 × 2 × 0.04 % = 0.1848 %.

Om nu uit te maken, welke van beide methoden de meest juiste waarde gaf, heb ik de varkenspepsine en de hondenpepsine in dezelfde concentratie vergeleken met behulp van de methode van *Grützner*. Ook hiermede vond ik, dat de oplossing van de varkenspepsine belangrijk sterker digereerde dan die van de hondenpepsine.

Later heb ik nog den zuurgraad van de verteringsmengsels verhoogd, door de edestine op te lossen in 0.2 % HCl en telkens 3 cM³ 0.2 % HCl toe te voegen, maar ik kreeg dezelfde afwijkende uitkomsten.

Ook, wanneer ik vergeleek een zwakkere oplossing van varkenspepsine met een van hondenpepsine (0.01 %), kreeg ik met de methode van *Fuld-Levison* voor de oplossing van de varkenspepsine een lagere waarde, dan voor de oplossing van hondenpepsine. Ik wil er op wijzen, dat noch door de 1 cM³ 1 ‰ edestine-oplossing, noch door de NaCl-oplossing een troebelheid of opalescentie in de oplossing van de varkenspepsine ontstond.

Het is mij niet duidelijk, op welke wijze de reactie door de varkenspepsine bij de edestine-methode gestoord wordt.

Ik bepaalde nog de sterkte van een extrakt van het maagslijmvlies van een varken.

Hiertoe praepareerde ik het fundusgedeelte van de maagmucosa van een varken af, hakte dit fijn en digereerde het op $^1/_2$ L 0,5 % HCl bij 37° C. Ik filtreerde dit door een pap van filtreerpapier in een zuigfilter. Nu had ik een helder, licht geel gekleurd filtraat. Dit verdunde ik eerst 2.5 maal met aq. dest. en verder met 0.2 % zoutzuur.

Proef 7a

Ik vergeleek het extrakt met een 0.04 % oplossing van hondenpepsine. Ik bracht in I: 1 cM³ oplossing van hondenpepsine, resp. 1 cM³ 2.5 × verdund extrakt etc.; in VIII: 1 cM³ oplossing van hondenpepsine 8 × verdund; resp. 1 cM³ (2.5 × 8) × verdund extrakt en verder edestineopl. en 0.1 % HCl in dezelfde hoeveelheden als in vorige proeven.

Tabel 7a

Hondenpepsine:	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
na 5 min. :	—	+	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
„ 10 „ :	—	—	+	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
„ 15 „ :	—	—	—	+	+ +	+ +	+ +	+ +

Conclusie: na 5 min. : 0.4 mgr. pepsine.
„ 10 „ : 0.2 „ „
„ 15 „ : 0.13 „ „
} heeft de 1 cM³ 1‰ edestine opl. verteerd.

Tabel 7b

Extrakt:	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.
na 5 min.:	—	—	+	++	++	++	++	++
„ 10 „	—	—	—	—	+	++	++	++
„ 15 „	—	—	—	—	—	—	+	++

Conclusie: na 5 min.: 1 cM³ (2 × 2.5) voudig verdund extrakt zou bevatten 0.4 mgr. pepsine, of het onverdunde extrakt = 0.2% opl. v. hon-pepsine. Na 10 min.: 1 cM³ (4 × 2.5) voudig verdund extrakt 0.2 mgr. pepsine; dus het extrakt = 0.2% oplossing. Na 15 min.: 1 cM³ (6 × 2.5) maal verdund extrakt komt in digereerend vermogen overeen met 0.13 mgr. pepsine of het onverdund extrakt = 0.2% oplossing van hondenpepsine.

Naar de methode van *Mett* vond ik echter, dat het onverdunde extrakt overeenkwam met een 0.85 à 0.81% oplossing van hondenpepsine. Dit volgt uit de volgende proef:

Proef 7b (methode v. *Mett*)

In A: 10 cM³ maagmucosa-extrakt: 5 × verdund (nl. 2.5 × met aq. dest. verder met 0.2% HCl).
„ B: 10 cM³ maagextrakt: 10 × verdund,
„ C: 10 cM³ 0.04% opl. van hondenpepsine.
„ D: 10 cM³ 0.02% „ „ „

Digestie in rust:

Tabel 7c

Pepsine:	A.	B.	C.	D.
na 8 uur:	3.68 mM	2.62 mM	1.78 mM	1.3 mM

Naar den regel van *Borissow*:

$$A : C = (3.68)^2 : (1.78)^2 \text{ of } A = 4.27\ C.$$
$$B : D = (2.62)^2 : (1.13)^2 \text{ of } B = 4.06\ D.$$

Berekenen we hieruit de sterkte van het onverdunde extrakt in % van een oplossing van hondenpepsine dan:

$$A \text{ onverdund} = 4.27 \times 5 \times 0.04\% = 0.85\%.$$
$$B \quad " \quad = 4.06 \times 10 \times 0.02\% = 0.81\%.$$

Derhalve vond ik ook voor het extrakt de waarde met de edestine-methode te laag.

We moeten dus wel aannemen, dat of de varkenspepsine zelf of een verontreiniging daarvan storend werkt op het reactieverloop bij de edestine-methode. Ik meen, dat in ieder geval zulk een waarneming tot de uiterste voorzichtigheid maant bij het trekken van conclusies uit proeven met de methode van *Fuld-Levison*. Bij het onderzoek van maagsappen van patienten, verkregen door uitheveling van de maag na proefontbijt, zullen allicht verontreinigende stoffen bij de reactie een rol kunnen spelen. Een contrôlebepaling, b.v. met de methode van *Mett*, zal derhalve zeer gewenscht zijn.

Dat ik met het maagsap van den hond goede uitkomsten verkreeg, mag ons niet verwonderen, daar toch in zulk geval met zuiver maagsap gewerkt wordt.

Reeds vroeger heb ik vermeld, dat *J. Christiansen* een dergelijk verschil constateerde tusschen de methoden van *Mett* en *Liebmann*.

BEPALING VAN HET GEHALTE VAN MAAGSAP AAN PEPSINE VOOR KLINISCHE DOELEINDEN

Er bestaat, zooals uit het voorafgaande blijkt, geen vaste regel, met behulp waarvan uit de snelheid, waarmede eenige soort van eiwit door een natuurlijk of kunstmatig maagsap wordt verteerd, met nauwkeurigheid het gehalte aan pepsine van een oplossing met betrekking tot dat van een andere kan worden bepaald, indien de met elkaar vergeleken oplossingen van verschillende sterkte zijn. Langs een omweg kan men evenwel dit doel bereiken, door de sterkste van de beide oplossingen zoo veel te verdunnen — er daarbij zorg voor dragend, dat het gehalte aan zoutzuur in beide oplossingen gelijk blijft — dat door beiden, in denzelfden tijd en onder overigens dezelfde omstandigheden, juist evenveel eiwit wordt verteerd. De verdunde oplossing heeft dan hetzelfde gehalte aan pepsine als de andere en uit de mate van verdunning die noodig is gebleken, is terstond af te leiden, hoeveel meer pepsine de verdunde oplossing oorspronkelijk heeft bevat dan de andere. De zeer gevoelige methode van *Grützner* maakt het mogelijk, op deze wijze ook een zeer zwak werkend maagsap met een andere, meer pepsine bevattende oplossing te vergelijken. Om tot eenigszins betrouwbare uitkomsten te geraken, dient men intusschen in aanmerking te nemen, dat uitgeheveld maagsap wel altijd stoffen bevat, die de vertering belemmeren en dus voor het onderzoek steeds met zoutzuur van de gewenschte sterkte dient te worden verdund.

Deze weg is echter, omdat het noodig is een aantal proeven, met verschillende verdunningen te nemen, omslachtig en tijdroovend en daarom voor toepassing in de geneeskunde weinig geschikt.

Men is echter bij het klinisch onderzoek gewoon, zich met een mindere mate van nauwkeurigheid dan bij streng scheikundig onderzoek wordt vereischt, tevreden te stellen. De schommelingen, die in de scheikundige veranderingen in het menschelijk lichaam plaats vinden, zijn zoo groot en hangen van zoovele onberekenbare omstandigheden af, dat meestal alleen belangrijke verschillen van waarde worden geacht bij de beoordeeling van de waargenomen afwijkingen. Zoo is het ook met betrekking tot het gehalte van het maagsap aan pepsine. Wanneer b. v. het uitgehevelde maagsap van een patiënt met dat van een gezonden mensch wordt ver-

geleken, zal men nog niet tot het bestaan van een pathologische afwijking in het maagslijmvlies van den patiënt besluiten, alleen omdat de verterende kracht van dit maagsap tot die van het maagsap van den gezonde in een verhouding blijkt te staan van 1 tot 1.1, of zelfs tot 1.2.

Wordt dit in aanmerking genomen, dan schijnt een bepaling van voldoende betrouwbaarheid niet onuitvoerbaar.

In de eerste plaats is het de vraag, welke van de aanbevolen methoden bij voorkeur te gebruiken zijn.

Uit hetgeen ik in het voorafgaande daaromtrent heb medegedeeld, volgt dat, naar mijn meening, de methode van *Mett* en die van *Grützner* boven alle andere in aanmerking moeten komen. De methode van *Fuld-Levison* is zonder twijfel gevoelig en vrij gemakkelijk uitvoerbaar, maar vooral mijn bevindingen omtrent de met deze methode gevonden afwijkingen bij het gebruik van varkenspepsine (zie pag. 140—144), doen mij aan haar algemeene toepasselijkheid twijfelen. Bovendien is mij uit vergelijkende proeven gebleken, dat de gevoeligheid van deze methode alleen dan groot is, indien men de snelheid, waarmede de edestine wordt verteerd, met niet veel minder dan tien verschillende verdunningen van het maagsap onderzoekt, waardoor de methode eenigszins omslachtig wordt.

De methode van *Mett* heeft het groote voordeel, dat zij zeer gemakkelijk uitvoerbaar is, weinig tijd kost en alle waarnemingen in een bepaalde lengtemaat uitdrukt. Heeft men eenmaal een mikroskoop met zeer zwakke vergrooting (ik gebruikte altijd objectief 3 van Leitz, na de frontlens te hebben afgeschroefd), van een oculairmikrometer voorzien, gereed staan, dan neemt het controleeren van de waarde van de verdeelde schaal in het oculair met den objectiefmikrometer en het meten van de verteerde eiwitzuiltjes in twee buisjes niet meer dan enkele minuten in beslag. Veelal is de grens van het verteerde en het onverteerde eiwit niet volkomen scherp, maar de onzekerheid daardoor veroorzaakt behoeft, als de buisjes goed zijn bereid, niet meer dan 0.1—0.2 mM te bedragen. Volstrekt noodig is het echter de eiwitbuisjes met zorgvuldigheid gereed te maken. De boven door mij beschreven wijze van bereiding heeft mij steeds geheel voldaan. Toch bleek het mij nog altijd noodig alle buisjes, terstond na de bereiding, na te zien en die welke geen gladde breukvlakte vertoonden of, wat veel erger is, luchtblaasjes bevatten, te verwijderen. Men kan licht een paar honderd buisjes tegelijk klaar maken. In 0.2% HCl bewaard, van een paar kristallen thymol voorzien, blijven die, aan de gewone kamertemperatuur blootgesteld, gedurende eenige maanden zonder merkbare verandering. Bevatten de buisjes echter zichtbare luchtblaasjes, dan kunnen er, zooals licht te begrijpen is, bij de meting groote fouten worden gemaakt.

Daarom is het van zooveel belang dat het geklopte eiwit, voordat het in de buizen wordt opgezogen, ongeveer 24 uren in het luchtledige wordt gehouden.

Zooals uit de vroeger medegedeelde proeven (zie Fig. I, II en III) blijkt, kan men de concentratie der pepsine, althans wanneer die zoodanig is dat de vertering in 24 uren niet veel meer dan 4 mM (2 mM aan ieder uiteinde) bedraagt, zonder belangrijke fout evenredig stellen aan het vierkant van het aantal mM verteerd eiwit.

De methode zou noodeloos omslachtig worden gemaakt, zoo men de buisjes in voortdurende beweging hield, waarbij, zooals ik heb medegedeeld, de vertering sneller gaat. Ik gebruikte voor mijn proeven steeds kleine Petri-schaaltjes met 10 cM^3 verteringsvloeistof, waardoor de buisjes geheel bedekt werden, en liet de schaaltjes rustig in de broedstoof bij 37°—38° C. staan. De uitkomsten, die ik daarbij verkreeg, waren zeer regelmatig. Ook liepen de lengten aan de vier uiteinden, die telkens werden gemeten, niet, of te nauwernood, uiteen.

Een bezwaar van de methode van *Mett* is, dat de vertering van het kippeneiwit nauwelijks of in het geheel niet is waar te nemen, indien het gehalte van de verteringsvloeistof aan pepsine zeer klein is. Men kan aan dit bezwaar eenigszins tegemoet komen, door, in plaats van kippeneiwit, bloedserum te gebruiken. Beter schijnt het mij echter in zulke gevallen de methode van *Grützner* toe te passen, die in gevoeligheid die van *Mett* ver overtreft.

Ook deze methode heeft groote voordeelen. Het voornaamste daarvan is wel dat de uitkomst van het onderzoek in zoo korten tijd wordt verkregen. De vertering der karmijnfibrine gaat zoo snel, dat de daarvoor noodige tijd bij minuten kan worden gerekend, terwijl bij de methode van *Mett* een geruime tijd, dikwijls een geheel etmaal, noodig is voor het oplossen van zooveel eiwit dat bij de meting kleine fouten slechts een onbeduidenden invloed hebben. Wel is waar blijven de buisjes van *Mett* gedurende dien tijd rustig staan, zonder dat men er naar behoeft om te zien, maar het is toch bij klinisch onderzoek zeer wenschelijk spoedig den uitslag der bepaling te kennen. De bepaling zelve is, bij het gebruik van den door *Grützner* aangegeven, eenvoudigen en zeer doelmatigen colorimeter, gemakkelijk en vlug uit te voeren.

De bereiding der karmijnfibrine is, omdat deze, wil men betrouwbare uitkomsten verkrijgen, zeer gelijkmatig fijn moet worden gewreven, wat lastig en tijdroovend, maar dit bezwaar is niet groot, omdat men een aanzienlijken voorraad tegelijkertijd kan maken, die, droog bewaard, onbepaalden tijd goed blijft. Van meer belang is het, dat voor elke bepaling

in eenige buisjes gelijke, met voldoende nauwkeurigheid afgewogen hoeveelheden fibrine moeten worden gebracht en dat het noodzakelijk is, gedurende den loop der digestie, door op gezette tijden herhaald roeren of schudden, voor een gelijkmatige verdeeling van de fibrine in de vloeistof te zorgen, waardoor, gedurende de geheele proef, de aandacht van den onderzoeker ten volle in beslag wordt genomen.

Het is wenschelijk de digestie niet lang, b.v. slechts 5 of 10 minuten, te doen duren, omdat, zooals ook uit mijn, boven meegedeelde proeven over de methode van *Grützner* blijkt, bij een langeren duur, tengevolge van het afnemen der hoeveelheid van nog onopgeloste fibrine, de werkzaamheid der pepsine schijnbaar allengs zwakker wordt. Men zou dus, bij het vergelijken van twee oplossingen van verschillende sterkte, na een vertering van b.v. 20 minuten, in de sterkste het gehalte aan pepsine te klein vinden, omdat daar de voorraad van fibrine het snelste is verminderd.

De meest geschikte wijze van toepassing der methode is, naar ik meen, deze, dat in de reageerbuisjes, die elk van dezelfde gewichtshoeveelheid droge fibrine zijn voorzien, gelijke hoeveelheden 0.1 % HCl worden gebracht en, nadat, door minstens 10 minuten staan, de fibrine goed is gezwollen, gelijke hoeveelheden van de oplossingen van pepsine, die men met elkaar wenscht te vergelijken; dat in ieder buisje elke minuut de fibrine, hetzij door roeren met een glazen staaf, hetzij door het met den duim gesloten buisje eenmaal om te keeren, goed door de vloeistof wordt verdeeld en dat dan de digestie, voor elk buisje even lang na de toevoeging van het maagsap, door filtreeren over glaswol wordt afgebroken. Men kan dan, zonder groote fouten te maken, het gehalte aan pepsine evenredig stellen aan de intensiteit van de roode kleur die de vloeistof heeft aangenomen. Het behoeft nauwelijks te worden gezegd, dat het wenschelijk is alle bepalingen in duplo te verrichten.

De voordeelen van de methode van *Grützner* zijn, zooals reeds is gezegd, vooral hierin gelegen, dat de verlangde uitkomst zeer spoedig wordt verkregen en dat zij ook, zij het dan ook met een iets langeren tijd van digestie, bruikbaar is bij maagsap, dat zoo weinig pepsine bevat, dat het kippeneiwit niet of nauwelijks kan verteren. Overigens meen ik echter de voorkeur te mogen geven aan de methode van *Mett*, die zeer eenvoudige hulpmiddelen vereischt, weinig tijd in beslag neemt en, indien de eiwitbuisjes met de noodige zorg zijn bereid, aan minder bronnen van fouten onderhevig is dan de methode van *Grützner*.

Het zou wenschelijk zijn het in maagsap gevonden gehalte aan pepsine in een vaste maat te kunnen uitdrukken, door middel van een standaardoplossing van pepsine, die telkens van dezelfde sterkte zou kunnen worden

bereid. Extrakten van maagslijmvlies zijn daarvoor niet bruikbaar, aangezien het verterend vermogen daarvan in verschillende gevallen te veel afwisselt. Hetzelfde moet van de pepsine-preparaten die in den handel voorkomen, gezegd worden. Pepsine op de wijze bereid, als door *Pekelharing* is aangegeven, kan echter, de mate van nauwkeurigheid, die voor klinische doeleinden vereischt wordt in aanmerking genomen, daarvoor wel dienst doen.

Uit het maagslijmvlies van het varken en uit het maagsap van den hond kon *Pekelharing* een eiwitstof bereiden van zeer ingewikkelde samenstelling, die in zeer sterke mate, zooals ook uit de boven beschreven proeven blijkt, de werkzaamheid van pepsine vertoont, en die werkzaamheid verliest, juist bij dezelfde temperatuur waarbij de oplossing van dit eiwit in zoutzuur, bij snelle verhitting coaguleert, bij langzame verhitting ontleed wordt, zonder een neerslag te geven. Uit het, door schijnvoedering verkregen, maagsap van den hond bereid, was deze stof volmaakt kleurloos, vrij van phosphorus en van een elementaire samenstelling die, ofschoon de bereiding niet altijd op dezelfde wijze plaats vond, een voor eiwit bevredigende standvastigheid vertoonde. Op deze en andere gronden, die in de vroeger reeds aangehaalde mededeelingen vermeld zijn, meende *Pekelharing* het waarschijnlijk te mogen achten, dat deze eiwitstof als het enzym, pepsine, zelf moet worden beschouwd. Uit het maagslijmvlies van het varken bereid, was de stof, nu eens meer, dan minder, met kleurstof en met P-houdende bestanddeelen, verontreinigd — altijd echter slechts in zeer geringe mate. Overigens stemde deze stof in alle opzichten met die uit het maagsap van den hond verkregen overeen.

Voorzoover ik heb kunnen nagaan, is *Grützner*[1]) de eenige, die, op grond van eigen onderzoek, tot de uitspraak is gekomen, dat ook de door *Pekelharing* bereide pepsine slechts een weinig van het enzym kan bevatten, „viel weniger als ein ebenso grosser Gewichtstheil ganze Magenschleimhaut mit all ihren Muskeln, Gefässen, ihrem Bindegewebe u. s. w." (S. 551).

Deze uitspraak berust echter op een vergissing, die *Grützner* terstond zelf zou hebben bemerkt, zoo hij ook naar de methode van *Pekelharing* bereide pepsine voor zijn onderzoek had gebruikt. Hij gaat uit van de onderstelling, dat *Pekelharing* met de mededeeling, dat 0.001 mgr. van zijn pepsine, in 6 cM^3 0.2% HCl opgelost, in ongeveer 20 uren een vlok fibrine verteerde, bedoeld kan hebben daarmede een bepaling van de sterkte van zijn pepsine te geven, terwijl toch niemand het recht heeft daaruit meer te lezen dan een aanwijzing, dat de stof inderdaad als een

---

1) *Pflüger's* Archiv, Bd. CXLIV, S 545.

krachtig enzym werkte. Het gaat immers niet aan, van een bepaling van de sterkte te spreken, wanneer niets wordt medegedeeld omtrent de grootte van de vlok fibrine, noch iets omtrent de wijze, waarop de fibrine in alkohol, in glycerine, of misschien nog anders, bewaard was, hetgeen, zooals ik heb medegedeeld (pg. 121 en 122), een belangrijk verschil maakt. *Grützner's* berekening, waaruit zou blijken, dat een met zoutzuur bereid extrakt van een varkensmaagslijmvlies ongeveer driemaal sterker verterende kracht bezat dan een oplossing van *Pekelharing's* pepsine, met een gelijk gehalte aan vaste stof, berust dus op een geheel onjuiste onderstelling. De werking van de naar *Pekelharing* bereide pepsine is inderdaad veel krachtiger dan *Grützner* meende te mogen aannemen, zooals uit de volgende proef blijkt, waarin ik de werking van gezuiverde pepsine van het varken heb vergeleken met een extrakt van het maagslijmvlies bereid op de wijze als door *Grützner* is aangegeven.

0.5 grm. fijngehakt en gedroogd slijmvlies van het fundusgedeelte van een varkensmaag werd in 50 cM³ zoutzuur van 0.2 % gebracht en na een half uur bij kamertemperatuur gestaan te hebben, gefiltreerd. Tegelijkertijd werd een oplossing van varkenspepsine gemaakt, ter sterkte van 0.02 %, in 0.2 % HCl. Van beide oplossingen werden gedeelten, resp. 2, 4, 8 maal, verdund met 0.2 % HCl.

8 reageerbuisjes werden elk van 50 mgr. karmijnfibrine en 9 cM³ 0.1 % HCl voorzien. Nadat de fibrine 10 minuten onder het zoutzuur had gestaan en opgezwollen was, werd aan elk buisje 1 cM³ toegevoegd van een der te onderzoeken oplossingen. De vertering vond plaats bij kamertemperatuur, terwijl iedere minuut de vloeistoffen met een staaf werden geroerd. Na 10 minuten werd de vertering, door filtreeren door glaswol, afgebroken en de uitkomst met den colorimeter van *Grützner* bepaald. De uitkomst was aldus :

Concentratie	1	$^1/_2$	$^1/_4$	$^1/_8$
Pepsine :	9.0	7.2	4.8	2.9
Extrakt :	4.2	1.9	1.0	0.5

Hieruit blijkt dus, dat de viermaal verdunde oplossing van varkenspepsine, van een sterkte derhalve van 0.005 %, ruim evenveel fribine in 10 minuten verteerde als het onverdunde extrakt.

Ook met de methode van *Mett* werd de proef genomen. Hiertoe werden telkens twee eiwitbuisjes bij 37° C. gedigereerd in :

A	10 cM³	pepsine	0.04 %	in	0.2 % HCl	Verteerd na 16 uren :	8.52 mM.
B	10 „	„	0.02 %	„	0.2 % „		6.78 „
C	2 „	extrakt en	8 cM³		0.2 % „		1.15 „
D	1 „	„	„ 9	„	0.2 % „		0.9 „

Volgens den regel van *Borissow* is dus de verhouding van het gehalte aan pepsine:

$$A : C = (8.52)^2 : (1.15)^2 = 54.9 : 1.$$
$$B : D = (6.78)^2 : (0.9)^2 = 56.8 : 1.$$

Neemt men de verdunning van het extrakt in aanmerking — bij C $^1/_5$, bij D $^1/_{10}$ — dan is dus door 4 mgr. pepsine ruim tienmaal, door 2 mgr. ruim vijfmaal meer verteerd dan door de pepsine in het met 50 cM^3 0.2 % HCl bereide extrakt van 0.5 grm. gedroogd maagslijmvlies.

De overeenstemming tusschen de met de methode van *Grützner* en die van *Mett* verkregen uitkomsten is voldoende om de zekerheid te geven, dat de volgens *Pekelharing* bereide pepsine niet, zooals *Grützner* meende, ongeveer driemaal zwakker, maar vier à vijfmaal sterker werkt dan het volgens het voorschrift van *Grützner* bereide extrakt.

Deze pepsine bestaat, volgens het scheikundig onderzoek, uit een eiwitstof van zeer bijzondere eigenschappen en is slechts weinig met andere bestanddeelen verontreinigd. Een bevestiging hiervan vindt men in de vrij wel standvastige werkzaamheid van verschillende preparaten, ook al zijn die niet altijd op dezelfde wijze behandeld. Ten bewijze hiervan wil ik eenige cijfers meedeelen.

Volgens de methode van *Mett* werd het verterend vermogen bepaald van drie preparaten, uit de digestievloeistof van vijf maagslijmvliezen van het varken in 0.5 % HCl, op de vroeger beschreven wijze bereid. De digestie duurde vier dagen. Preparaat I werd verkregen door dialyse van de geheel helder afgefiltreerde digestievloeistof. Het neerslag werd afgecentrifugeerd, bij 37° C. in zoo weinig mogelijk 0.2 % HCl opgelost. De door dialyse uit deze oplossing neergeslagen pepsine werd afgefiltreerd, in vacuo gedroogd en fijngewreven.

Preparaat II werd uit de gedialyseerde en daarna gecentrifugeerde digestievloeistof bereid, door precipitatie met loodazijn en ammonia. Het neerslag werd door middel van oxaalzuur ontleed, het loodoxalaat werd afgefiltreerd, waarna uit het filtraat weder, door dialyse, pepsine werd neergeslagen. Ook dit neerslag werd, evenals het vorige, in 0.2 % HCl opgelost, de pepsine werd door dialyse uit deze oplossing neergeslagen en gedroogd.

Preparaat III. De van het loodneerslag afkomstige, gedialyseerde en van de neergeslagen pepsine bevrijde vloeistof werd met ammoniumsulfaat verzadigd. Het neerslag werd door dialyse tegen 0.2 % HCl van ammoniumsulfaat bevrijd, daarna bij 37° C. in 0.2 % HCl opgelost. Uit deze oplossing werd door dialyse opnieuw een neerslag van pepsine verkregen, dat, als de beide vorige, in vacuo gedroogd en fijngewreven werd.

Van elk dezer preparaten werd het verterend vermogen bepaald, door twee buisjes van *Mett* gedurende 24 uren te digereeren met 0.5 cM³ van een oplossing van 0.1 % pepsine in 0.2 % HCl, met 9.5 cM³ 0.2 % HCl. Elk schaaltje bevatte dus 0.5 mgr. pepsine.

De uitkomst der meting was: I 5.5 mM, II 5.6 mM, III 5.3 mM.

Drie andere preparaten, ook uit vijf varkensmaagslijmvliezen, geheel op dezelfde wijze bereid, werden evenzoo onderzocht. Van Prep. I verteerde 0.5 mgr. in 24 uren 5.3 mM, van prep. II 5.4 mM, van prep. III 5.4 mM.

De verschillen zijn zoo gering, dat op deze wijze bereide pepsine wel als een voor de praktijk bruikbare standaard mag worden beschouwd.

Pepsine uit het maagsap van den hond zou, omdat zij zuiverder dan uit het maagslijmvlies van het varken kan worden bereid, de voorkeur verdienen als standaard-preparaat, indien aan de bereiding daarvan niet zooveel bezwaar was verbonden. Vooreerst eischt een hond, waarbij de slokdarm dwars doorgesneden is, een zeer zorgvuldige verpleging. Het voedsel moet dagelijks door de maagfistel in de maag worden gebracht en niet alleen met zorg worden bereid, maar, ook met het oog op het voortdurend verlies van al het speeksel en op het telkens terugkeerend verlies van aanzienlijke hoeveelheden chloriden, tengevolge van het aftappen van maagsap, van doelmatige samenstelling zijn. Bovendien moet, wegens het afvloeien van het speeksel door de slokdarmfistel, bijzondere zorg aan de reiniging van den hond worden gewijd. Een der allereerste voorwaarden toch voor het verkrijgen van normaal, krachtig werkend, maagsap is wel, dat de gezondheid van den hond in geenerlei opzicht wordt gestoord.

Maar er komt een ander bezwaar bij, dat zich bij den vroeger door *Pekelharing* voor zijn onderzoekingen gebruikten hond niet of te nauwernood deed gevoelen, maar bij het nu tot mijn beschikking staande dier ernstig deed gelden. Ofschoon de gezondheidstoestand van het dier, in het bijzonder wat de spijsvertering aangaat, niets te wenschen overliet, was toch, zooals ik vroeger reeds heb vermeld (pag. 82), het maagsap steeds, nu eens meer, dan weer wat minder, met vrij wat lichtbruin gekleurd slijm vermengd. Slechts door filtratie, door samengeperste pap van filtreerpapier, kon het geheel helder en kleurloos worden verkregen.

De uit dit maagsap door dialyse afgescheiden pepsine loste slechts langzaam, ook bij verwarming op lichaamstemperatuur, in 0.2% HCl op en vertoonde een betrekkelijk gering verterend vermogen. Bij dialyse van deze oplossing tegen gedestilleerd water bleek pepsine te worden neergeslagen, die niet sterker, soms zelfs nog zwakker werkte.

Hier volgen eenige voorbeelden:

Van twee preparaten, I: door het maagsap te dialyseeren; II: door het aldus gevormde neerslag weder in 0.2 % HCl op te lossen en nogmaals te dialyseeren, bereid, werden oplossingen gemaakt in 0.2 % HCl, ter sterkte van 0.04 %. Van ieder der beide oplossingen werd 10 cM³ met twee buisjes van *Mett* bij 38° C. gedigereerd. De vertering was:

na 6 uren:	I: 1.17 mM	II: 1.15 mM
„ 25 „ .	I: 5.70 „	II: 5.68 „

De beide preparaten verteerden het eiwit dus even snel.

Dezelfde oplossingen werden naar *Grützner's* methode onderzocht.

In telkens 5 buisjes, elk met 50 mgr. karmijnfibrine en 9 cM³ 0.1 % HCl werd van de 0.04 % oplossing van pepsine gebracht:

a. 1 cM³
b. ½ „ en ½ cM³ 0.2 % HCl
c. ⅓ „ „ ⅔ „ „ „
d. ¼ „ „ ¾ „ „ „
e. ⅕ „ „ ⅘ „ „ „

De fibrine was, vóór de toevoeging der pepsine, 20 minuten met het zoutzuur in aanraking gelaten.

De colorimetrische bepaling gaf de volgende waarden:

na 10 min. I:	*a.* 1.7	*b.* 1.0	*c.* 0.6	*d.* 0.4	*e.* 0.3
„ „ „ II:	„ 1.65	„ 1.0	„ 0.6	„ 0.5	„ 0.25
na 15 min. I:	*a* 2.6	*b* 1.5	*c* 1.0	*d* 0.7	*e* 0.5
„ „ „ II:	„ 2.5	„ 1.5	„ 0.9	„ 0.7	„ 0.5

Ook op deze wijze werden dus de beide preparaten even sterk bevonden. Eindelijk werden beide oplossingen met de methode van *Fuld-Levison* onderzocht.

In elk van telkens 5 buisjes kwam 1 cM³ 0.1 % edestine met 3 cM³ 0.1 % H Cl waarna aan elk pepsine werd toegevoegd, juist op dezelfde wijze als in de vorige proef met 0.2 % H Cl verdund. De uitkomst was, in 3 reeksen,

na 5 min. I:	*a* —	*b* +	*c* + +	*d* + +	*e* + +
II:	„ —	„ +	„ + +	„ + +	„ + +
„ 10 „ I:	„ —	„ —	„ +	„ + +	„ + +
II:	„ —	„ —	„ +	„ + +	„ + +
„ 15 „ I:	„ —	„ —	„ —	„ +	„ + +
II:	„ —	„ —	„ —	„ +	„ + +

Verschil tusschen de beide preparaten werd dus ook hier niet gevonden.

In andere gevallen was het echter anders, zooals uit het volgende voorbeeld blijkt.

Twee preparaten, I en II, geheel op dezelfde wijze als in het vorige geval bereid, werden onderzocht,

1° volgens de methode van *Mett.*

Van elk werden twee oplossingen, in 0.2 % H Cl. gemaakt, een van 0.01 % en een van 0.005 % pepsine. 10 cM³ van elke oplossing werd met twee buisjes van *Mett* gedurende 20 uren gedigereerd. De vertering bedroeg:

I	0.01 %	2.57 mM.	0.005 %	1.63 mM.
II	„	1.83 „	„	1.27 „

Volgens den regel van *Borissow* zou dus de verhouding van de concentratie der pepsine tusschen I en II zijn, $(2.57)^2 : (1.83)^2$, of $(1.63)^2 : (1.27)^2 = 1.9$ of 1.65 : 1.

2° volgens de methode van *Grützner.*

Van de beide preparaten werden oplossingen in 0.2 % H Cl. gemaakt, ter sterkte van 0.04 %. In twee reeksen elk van vier buisjes met 50 mgr. karmijnfibrine en 9 cM³ 0.1 % HCl werd, nadat de fibrine gedurende 20 minuten gelegenheid had gehad om te zwellen, pepsine toegevoegd in de hieronder opgegeven verdunning. Na 15 minuten werd de vertering bepaald.

1 cM³ 0.04 % pepsine		I: 7.1 II: 4.8
½ „ „ „	met ½ cM³ 0.2 % H Cl.	I: 3.8 II: 2.4
¼ „ „ „	„ ¾ „ „ „	I: 2.0 II: 1.4
⅛ „ „ „	„ ⅞ „ „ „	I: 0.9 II: 0.7

Volgens deze bepaling werkt I ongeveer 1.5 maal zoo sterk als II.

3° werd de edestine-methode toegepast.

Hierbij werd aan twee reeksen van vier buisjes, elk met 1 cM³ 0.1 % oplossing van edestine en 3 cM³ 0.1 % HCl., pepsine toegevoegd in dezelfde verdunningen als bij de methode van *Grützner* waren gebruikt. Na een digestie van 10 minuten was het verschil niet duidelijk. Bij I zoowel als bij II bleef de vloeistof bij vermenging met NaCl geheel helder in de buisjes waaraan 1 of ½ cM³ van de oplossing van pepsine was toegevoegd. Het buisje met ¼ cM³ pepsine werd bij I wel minder troebel dan bij II, maar bleef toch niet helder.

Ik heb daarom de proef herhaald met twee reeksen elk van 10 buisjes, waaraan telkens 1, 0.9, 0.8, ... tot 0.1 cM³ van de oplossing van pep-

sine, met zooveel 0.2 % HCl. dat het volumen altijd 1 cM³ bedroeg, werd toegevoegd.

De uitkomst was nu aldus:

Pepsine:	1	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1
na 5 min.: I	—	—	—	—	—	+	++	++	++	++
„ 5 „ : II	—	—	—	+	++	++	++	++	++	++
„ 10 „ : I	—	—	—	—	—	—	—	—	+	++
„ 10 „ : II	—	—	—	—	—	—	—	+	++	++

Derhalve: in 5 minuten is de edestine verteerd door 0.24 mgr. van preparaat I en door 0.32 mgr. van II; in 10 minuten door 0.12 mgr. van I en door 0.16 mgr. van II. Volgens deze bepaling zou dus I ongeveer 1.3 maal sterker zijn dan II.

Ik vermeld deze proef in bijzonderheden, om te doen zien, dat de methode van *Fuld-Levison* het onderscheid in de werking van verschillende oplossingen van pepsine niet zoo gemakkelijk doet uitkomen als de methode van *Grützner* of die van *Mett.*

Steeds werkte de pepsine die, na verwijdering van een deel daarvan door dialyse, uit het maagsap werd neergeslagen door half verzadigen met ammoniumsulfaat, krachtiger, ofschoon niet zoo krachtig als de pepsine uit het maagslijmvlies van het varken.

Ik laat hier een proef volgen, waarin vier preparaten met elkaar werden vergeleken. I en II heeft dezelfde beteekenis als in de zooeven vermelde proeven, III is pepsine uit de, na dialyse van het maagsap van den hond afgecentrifugeerde vloeistof, door half verzadigen met ammoniumsulfaat neergeslagen, IV is pepsine van het varken.

Van elk preparaat werd in 0.2 % HCl een oplossing gemaakt ter sterkte van 0.04 % en een van 0.02 %. 10 cM³ van iedere oplossing werd met twee buisjes van *Mett* gedurende 16 uren gedigereerd. De uitkomst was:

	I	II	III	IV
0.04 %:	4.33 mM.	4.38 mM.	6.67 mM.	8.92 mM.
0.02 %:	3.12 „	3.12 „	4.83 „	7.05 „

De kwadraten van deze getallen verhouden zich als:

	I	II	III	IV
0.04 %:	1	1.02	2.37	4.24
0.02 %:	1	1	2.4	5.1

Voor het onderzoek volgens de methode van *Grützner* werden van elk preparaat vier oplossingen gemaakt in 0.2 % HCl, een van 0.04 %, een van 0.02 %, een van 0.01 % en een van 0.005 %. Van ieder daarvan werd

1 cM³ gebracht in een buisje met 50 mgr. karmijnfibrine en 9 cM³ 0.1 % HCl, nadat de fibrine een half uur met het zoutzuur in aanraking was geweest. De digestie duurde, omdat de kamertemperatuur ongewoon laag was, 30 minuten. Daarna werd gevonden:

	I	II	III	IV
0.04 % :	3.45	3.40	7.0	7.9
0.02 % :	2.1	2.2	5.0	5.7
0.01 % :	1.2	1.2	3.95	4.7
0.005 % :	0.6	0.6	2.9	3.8

Volgens beide methoden werd dus de verterende kracht van I en II gelijk gevonden, terwijl III ruim dubbel zoo krachtig werkte. Het verschil tusschen de pepsine van den hond en die van het varken vertoonde zich bij de methode van *Mett* grooter dan bij die van *Grützner*, vooral als III en IV met elkaar worden vergeleken, maar daarbij moet in aanmerking worden genomen, dat, zooals vroeger is uiteengezet, de methode van *Grützner*, vooral bij krachtige vertering, waarbij de hoeveelheid fibrine snel afneemt, licht te geringe waarden geeft.

Ik voeg hier nog eenige waarnemingen aan toe, die verschillende preparaten betreffen, op de boven aangegeven wijze bereid, I, door dialyse van het maagsap neergeslagen, II, door I in 0.2 % HCl op te lossen en weer door dialyse te precipiteeren, III, door de van I door centrifugeeren afgescheiden vloeistof half te verzadigen met ammoniumsulfaat, het neerslag door dialyse tegen 0.2 % HCl van zout te bevrijden en dan bij 38° C. in zoutzuur van die sterkte op te lossen en eindelijk daaruit de pepsine door dialyse tegen gedistilleerd water neer te slaan.

Het onderzoek had plaats volgens de methode van *Mett* en wel zoo, dat telkens 0.5 cM³ van een 0.1% oplossing van pepsine en 9.5 cM³ 0.2% HCl gedurende 24 uren met twee eiwitbuisjes werd gedigereerd. Zoo werd gevonden:

I.	II.	III.
2.4 mM	2.2 mM	4.4 mM
2.0 „	2.3 „	4.0 „
2.2 „	2.1 „	4.6 „
1.9 „		4.8 „
2.2 „		
1.8 „		
2.6 „		

Uit deze bevinding behoeft nog niet te worden afgeleid, dat er tusschen de preparaten I en II aan den eenen en III aan den anderen kant een

groot verschil is in zuiverheid. Het is ook zeer wel denkbaar, dat de zwakkere werking van de beide eerstgenoemde preparaten moet worden toegeschreven aan verontreiniging met een de werking der pepsine hinderende stof, een anti-pepsine, als men aan zulk een naam eenige beteekenis wil hechten, die in slechts zeer geringe hoeveelheid aanwezig behoeft te zijn om duidelijken invloed te hebben.

Het scheen niet onmogelijk daaromtrent eenige zekerheid te verkrijgen. Immers, wanneer de zwakkere werking van verontreiniging met onwerkzame stoffen afhankelijk is, dan zou, bij vermenging van een zwak met een sterker werkend preparaat, in bekende hoeveelheden, de werking van het mengsel gelijk moeten zijn aan die van de som der samenstellende deelen. Bevat echter de zwak werkende pepsine een stof, die de vertering van eiwit belemmert, dan zou deze, naar alle waarschijnlijkheid, in het mengsel opgenomen, haar invloed ook op de krachtiger werkende pepsine moeten doen gelden en zou dus de vertering zwakker moeten worden gevonden dan aan de som der gebruikte hoeveelheden beantwoordt.

Ook zou men nog kunnen denken, dat niet I en II verontreinigd zijn, maar dat III een aktiveerende stof bevat, die veel beter dan door dialyse, door ammoniumsulfaat wordt neergeslagen. In dat geval zou de verterende kracht van het mengsel grooter moeten worden gevonden dan uit de werking van ieder der preparaten afzonderlijk zou worden afgeleid.

Een drietal proeven werd nu op de volgende wijze genomen.

Van door dialyse van het versche maagsap neergeslagen, zwak werkende pepsine I en van uit het filtraat daarvan met ammoniumsulfaat neergeslagen, sterker werkende pepsine III, werden oplossingen gemaakt in 0.2% HCl, ter sterkte van 0.1%. Daarna werden 5 cM³ van I vermengd met 5 cM³ van III.

Van elk dezer oplossingen werd nu 0.5 cM³ met 9.5 cM³ 0.2% HCl gedurende 24 uren bij 38° C. gedigereerd met twee eiwitbuisjes. In elk schaaltje bevond zich dus 0.5 mgr. pepsine. Uit het aantal mM eiwit door I en door III opgelost kon nu aldus worden berekend hoeveel mM zouden worden opgelost door het mengsel, indien de mindere werkzaamheid van I aan verontreiniging met onwerkzame bestanddeelen moest worden toegeschreven.

Is a het aantal mM verteerd door I en b het aantal verteerd door III, dan is, volgens den regel van *Borissow*, de concentratie der pepsine in het mengsel, wanneer die in I=1 wordt gesteld, $^1/_2 (1 + \frac{b^2}{a^2})$. Noemt men het aantal mM door het mengsel opgelost x, dan is $1 : {}^1/_2 (1 + \frac{b^2}{a^2}) = a^2 : x^2$,

dus $x=\sqrt{\frac{1}{2}(a^2+b^2)}$. Gevonden werd:

I.	2.3	mM.	III.	4.6	mM.	Mengsel	3	mM	(berekend	3.6 mM).
I.	1.9	„	III.	4.3	„	„	3	„	(„	3.33 „).
I.	2.3	„	III.	4.5	„	„	3	„	(„	3.56 „).

In alle drie de gevallen bleek dus de verterende kracht van het mengsel kleiner dan moest worden verwacht, indien het geen stoffen bevatte, die de vertering van het eiwit belemmeren. Het is welbekend, dat zulke stoffen reeds in zeer geringe hoeveelheid een belangrijken invloed kunnen hebben. De door dialyse uit het maagsap neergeslagen pepsine behoeft dus slechts zeer weinig daarmede verontreinigd te zijn, om in haar werking een zeer merkbare verzwakking te vertoonen. Bij de dialyse worden zij, met de neergeslagen pepsine, zoo niet geheel, dan toch grootendeels uit het maagsap verwijderd. Uit de afgecentrifugeerde vloeistof kan dus de daarin nog opgelost gebleven pepsine vrij, of zoo goed als vrij, daarvan door ammoniumsulfaat worden neergeslagen. Dat ook dit neerslag niet zoo krachtig werkt als de uit het maagslijmvlies van het varken bereide pepsine, is geen voldoende grond om een verschil tusschen de pepsine van het varken en die van den hond aan te nemen, maar zou ook van een, zij het ook zeer geringe, verontreiniging van het preparaat III van den hond met „antipepsine" afhankelijk kunnen zijn.

Van het voorkomen van zulke stoffen in de pepsine van het varken blijkt niets, daar toch, zooals vermeld is, de op verschillende wijzen daaruit verkregen preparaten geen verschillen in werkzaamheid van eenige beteekenis vertoonen. Nu wordt deze pepsine bereid nadat het maagslijmvlies gedurende vijf dagen met zoutzuur is gedigereerd. Het zou kunnen zijn dat daarbij de hinderlijke stoffen onschadelijk worden gemaakt. Ik heb daarom onderzocht of zij wellicht ook uit het maagsap van den hond kunnen worden verwijderd door dit, vóór de dialyse, een tijd lang aan lichaamstemperatuur bloot te stellen. Men stuit daarbij op het bezwaar, dat pepsine, zoo zij, zooals in het zuivere maagsap, niet in voldoende mate door eitwit of albumose wordt beschut, zich zelve verteert [1]). Uit maagsap dat 24 uren bij 38° C. heeft gestaan, wordt door dialyse slechts zeer weinig pepsine meer neergeslagen, die niet krachtiger werkte dan gewoonlijk bij pepsine I werd gevonden. Maar ook wanneer ik aan het maagsap eerst fibrine toevoegde en dan de digestie vier dagen lang voortzette, werd de daaruit, na filtratie, door dialyse neergeslagen pepsine niet of nauwelijks krachtiger gevonden.

---

1) Zie, Onderz. Physiol. Laborat. Utrecht, 5de Reeks V, p. 285, ook Arch. d. Sc. biol. T. XI, p. 37.

Pepsine, op de beschreven wijze bereid, is weinig hygroskopisch maar wordt toch allengs, wanneer zij niet in een geheel droge omgeving wordt bewaard, eenigszins vochtig en dan gaat zij sterk in werkzaamheid achteruit. Wordt zij echter goed voor vocht en licht beschut, dan behoudt zij haar werkzaamheid gedurende langen tijd.

Drie preparaten uit het maagsap van den hond, I, II en III (deze cijfers hebben dezelfde beteekenis als in de zooeven beschreven proeven) werden onderzocht volgens de methode van *Mett* en volgens die van *Grützner*. Telkens werden twee eiwitbuisjes gedigereerd met 10 cM³ 0.2 % HCl, waarin zich 0.4 mgr. pepsine bevond, gedurende 24 uren, terwijl, voor de methode van *Grützner*, telkens aan 100 mgr. karmijnfribine met 8 cM³ 0.1 % HCl na 10 minuten staan, 2 cM³ pepsine in 0.2 % HCl opgelost werd toegevoegd, zóó dat ook hier elk buisje 0.4 mgr. pepsine bevatte. De buisjes werden iedere minuut omgeschud. De digestie had hier, als altijd bij deze methode, plaats bij kamertemperatuur en werd na 5 minuten door filtreeren over glaswol afgebroken. De bepaling werd, terwijl de pepsine in den exiccator, in het duister, werd bewaard, na 35, daarna nog eens na 63 dagen herhaald. De uitkomst was:

Mett . .	I.	II.	III.
versch . .	2.1 mM	1.66 mM	3.1 mM
na 35 d. .	2.2 „	1.92 „	3.1 „
„ 63 „ .	2.3 „	2.04 „	3.28 „

Grützner .	I.	II.	III.
versch . .	1	0.93	1.3
na 35 d. .	1	0.93	1.62
„ 63 „ .	1	1.04	1.76

De verschillen zijn zoo klein, dat zij de grenzen der waarnemingsfouten niet overschrijden.

Ook pepsine van het varken, goed bereid, blijft, indien zij slechts tegen vocht en licht beschut wordt, gedurende langen tijd onveranderd. Van een preparaat, dat ruim twee jaren in den exsiccator in het duister bewaard was, verteerde 0.5 mgr. in 10 cM³ 0.2 % HCl, met twee buisjes van *Mett* 24 uren gedigereerd, 5.5 mM, juist zooveel dus als de pg. 152 vermelde, versch bereide preparaten.

Wenscht men dus, voor klinische doeleinden, het gehalte van eenig maagsap aan pepsine te bepalen en in een vaste maat uit te drukken, dan kan men, naar ik meen, daartoe, in de meeste gevallen van de methode van *Mett*, is echter de verterende kracht van het maagsap zeer gering, beter van de methode van *Grützner*, met vrucht gebruik maken, terwijl als maatstaf de pepsine van het varken, op de beschreven wijze bereid, voldoende betrouwbaar is te achten. Wel kan pepsine van den hond zuiverder worden verkregen, maar niet alleen stuit men daarbij,

zooals uit het medegedeelde is gebleken, somtijds op bezwaren, het zuivere maagschap van den hond, waarvan men bij de bereiding moet uitgaan, is bovendien niet zonder veel moeite te verkrijgen. Het maagslijmvlies van het varken daarentegen kan men zich steeds gemakkelijk verschaffen en het is mogelijk daaruit, zonder grooten omslag, een voorraad van pepsine te bereiden, die, wanneer de stof slechts op geschikte wijze wordt bewaard, langen tijd bruikbaar blijft.

B7632