

М 79. 4908

М

Серия диссертаций, допущенных къ защитѣ въ Императорской Военно-Медицинской Академіи въ 1888—89 учебномъ году.

№ 63.

МАТЕРІАЛЫ

КЪ УЧЕНІЮ

О НЕОРГАНИЗОВАННЫХЪ ФЕРМЕНТАХЪ.



Изъ Физиологическаго Кабинета проф. Тарханова.

БІБЛІОТЕКА
Харківського Медичн. Інституту.
№ 4908
Шифр М. 79

Диссертация

НА СТЕПЕНЬ ДОКТОРА МЕДИЦИНЫ

И. И. Мрочковскаго.

ПЕРЕВІРІНО

1936

Цензорами, по постановленію Конференціи, были профессора:
Н. Р. Тархановъ, А. Ф. Баталіевъ, адъютантъ-лаборантъ С. А. Пржибытскій.

С.-ПЕТЕРБУРГЪ.

Типографія Д-ла Уайльонъ, Моховая, № 36.

1889.

64752

Серія диссertaцій, допущенихъ къ защитѣ въ Императорской Военно-Медицинской Академіи въ 1888—89 учебномъ году.

№ 63.

574.15

11-79

7 - ИЮН 2012

МАТЕРІАЛЫ

КЪ УЧЕНІЮ

Харьковский Медицинский Институт
№ 4908
Мифр. М-79

О НЕОРГАНИЗОВАННЫХЪ ФЕРМЕНТАХЪ.

ПЕРЕВІРЕНО 1936

Изъ Физиологическаго Кабинета проф. Тарханова.

Диссертация

НА СТЕПЕНЬ ДОКТОРА МЕДИЦИНЫ

И. И. Мрочновскаго.

Цензоры, по постановленію Конференціи, были профессеры:
И. Р. Тархановъ, А. Ф. Баталинъ, адъюнктъ-лаборантъ С. А. Пракбытекъ.

Исчислен
1888 г.

Имя: НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА
№ 1-го Харьк. Мед. Института

С.-ПЕТЕРБУРГЪ.

Типографія Д-на Удальцова, Мохомая, № 36.

1888.

4027

64752

1950

Переучет-60

7 - НОЯ 2012

Докторскую диссертацию лекаря И. Мрочковского под заглавием: «Материалы къ учению о неорганизованных ферментах» печатать разрешается съ тѣмъ, чтобы по отпечатаніи оной было представлено въ Конференцію Императорской военно-медицинской академіи 500 экземпляровъ сл. С.-Петербурга, Апрѣля 15 дня, 1889 года.

Ученый Секретарь В. Пашутинъ.

БИБЛИОТЕКА

ПЕРЕВЕРНУТЬ 1936

1. — О неорганизованных ферментах вообще. Распространение ихъ въ животномъ и растительномъ царствахъ. Сравнение ихъ дѣйствія съ дѣйствіемъ ферментовъ организованныхъ (микроорганизмовъ).

§ 1. Называя неорганизованными ферментами или энзимами тѣ сложныя, органическія, азотъ содержащія, растворимыя вещества, которыя производятъ, будучи сами взяты даже въ самыхъ малыхъ количествахъ, химическія измѣненія другихъ органическихъ веществъ, превращая ихъ въ тѣла, выделяющія менѣе теплоты при стораіи, чѣмъ первоначальныя вещества, изъ которыхъ тѣла эти произошли ¹⁾, мы вкратцѣ опишемъ и другія, извѣстныя свойства этихъ энзимъ. При дѣйствіи ихъ на органическія вещества, получаются обыкновенно, хотя и не всегда, вещества легко диффундирующія и растворимыя или, по крайней мѣрѣ, обладающія этими свойствами въ большей степени, чѣмъ первоначальныя вещества, изъ которыхъ они произошли.

§ 2. Неорганизованные ферменты, производя вышесказанныя измѣненія извѣстныхъ органическихъ веществъ, во-первыхъ, дѣлаютъ это, будучи сами взяты и въ очень малыхъ количествахъ, такъ что многими высказывалось даже мнѣніе, что энзимы могутъ производить, свойственныя имъ, измѣненія другихъ веществъ въ неограниченно большомъ количествѣ, сами при этомъ нисколько не измѣняясь, не издерживаясь, — мнѣніе, которое, впрочемъ, теперь не можетъ быть болѣе принимаемо безъ существенныхъ ограниченій ²⁾. Во-вторыхъ, сказанныя

¹⁾ Физиолог, Химія Гоппе-Зейлера.

²⁾ А именно, согласно многимъ изслѣдованіямъ, неорганизованные ферменты теряютъ отчасти свою энергію, послѣ того, какъ они произвели свойственныя имъ измѣненія. См. напр. изслѣдованіе проф. Пашутина — Wirkung d. Speichels auf Amylum. Jahresber d. Thierch. Bd. I. S. 188.

измѣненія органическихъ веществъ происходятъ подъ вліяніемъ ферментовъ (неорганизованныхъ) при известныхъ только условіяхъ, какъ то: опредѣленной $^{\circ}$, реакціи и т. д., такъ какъ при другихъ условіяхъ неорганизованные ферменты, будучи сами веществами легко измѣняемыми, не только не проявляютъ присущаго имъ дѣйствія, но даже и сами совершенно разрушаются, такъ, напр., всѣ они, будучи нагрѣты въ водныхъ растворахъ до кипѣнія, т. е. до 100° , теряютъ окончательно присущія имъ свойства ¹⁾; обыкновенно даже они не выносятся и болѣе низкихъ температуръ. Въ третьихъ, всѣ неорганизованные ферменты дѣйствуютъ специфически, т. е. каждый изъ нихъ проявляетъ только одно какое-либо ему присущее дѣйствіе, дѣйствуетъ на одну только какую-либо категорию органическихъ веществъ.

§ 3. Къ этимъ характеристичнымъ признакамъ или свойствамъ неорганизованныхъ ферментовъ Schönbein ²⁾ присоединилъ и свойство ихъ разлагать перекись водорода H_2O_2 съ выдѣленіемъ свободного O , что доказывалось посибніемъ гваяковой тинктуры. На этомъ основаніи Schönbein высказался за повсемѣстное распространение ферментовъ въ животныхъ и растительныхъ тканяхъ, ибо вытяжки изъ этихъ тканей обладали свойствомъ въ сказанныхъ условіяхъ, т. е. въ присутствіи H_2O_2 , производить посибніе гваяковой тинктуры, наравнѣ съ такими, сравнительно, хорошо изученными и изолированными ферментами (энзимами), какъ диастазъ, эмульсинъ и пр. Но, какъ то показавъ Van den Broek ³⁾, гваяковая тинктура снижаетъ отъ прибавки многихъ органическихъ вытяжекъ и безъ прибавки H_2O_2 , хотя и въ слабой степени, а затѣмъ— что важнѣе—нагрѣваніе до кипѣнія растворовъ, въ которыхъ предполагалось присутствіе ферментовъ, не лишаетъ эти растворы способности производить посибніе гваяковой тинктуры въ присутствіи H_2O_2 ⁴⁾ въ степени почти столь же значительной, какъ это производятъ и некипяченые растворы. Какъ известно, (Nussbaum. Jahresber. d. Thierch VI, 269) думалъ найти реакцію на неорганизов. ферменты въ способности ихъ окрашивать

¹⁾ Въ сухомъ же видѣ они много постояннѣе такъ, какъ, будучи высушенными, могутъ иногда выносить нагрѣваніе даже до $160^{\circ} C$.

²⁾ Journ. f. prak. Chem. Bd. CVI, S. 256. Ueber d. Wasserstoffperoxyd als Mittel, die Fermentartige Beschaff. org. Materien zu erkennen.

³⁾ Jahresbericht d. Chemie v. Liebig u. Koppe, 1849, S. 455.

⁴⁾ Baranetzky, Die Stärkebildenden Fermente in den Pflanzen. Leipzig, 1878.

ся, какъ въ водныхъ растворахъ, такъ и при содержаніи ихъ въ протоплазмѣ клітки, въ черныи дѣвѣ отъ осміевой кислоты. Послѣ кипяченія, ферменты теряютъ эту способность. Но Grützner (Jahresber. d. Thierch VII, S. 367) показавъ, что этой реакціи нельзя придавать особеннаго значенія, въ качествѣ указателя для ферментовъ, ибо напр. желѣзистая клітка *gl. submaxill.* кролика лишняя диастатическаго фермента, окрашивается въ черныи дѣвѣ отъ осміевой кислоты. Какъ бы то нибыло, несомнѣнно, что неорганизованные ферменты (энзимы) представляются веществами далеко еще не вполне изученными:—они не были, можно сказать, еще получены въ совершенно чистомъ видѣ и тѣ цифры, которыя были найдены относительно элементарнаго состава нѣкоторыхъ изъ нихъ, напр. эмульсина Aug. Schmidt'омъ, диастаза—Lintner'омъ (см. Jahresber. d. Thierch. Bd. XVI, S. 496) и др., не имѣютъ особеннаго значенія и разнѣ показываютъ только, что неорганизованные ферменты содержатъ менѣе углерода и азота, а за то болѣе кислорода, чѣмъ бѣлковыя вещества. Слѣдъ намъ пока остается только классифицировать ихъ по проявляемому имъ дѣйствію.

§ 4. Измѣненія разныхъ органическихъ веществъ, обуславливаемые известными намъ энзимами, можно свести къ процессамъ гидратации ¹⁾, при чемъ сложная частица органическаго вещества, воспринявшая воду въ количествѣ 1 или болѣе частицъ, расщепляется на 2 или болѣе простѣйшихъ частицъ. Таковыя будутъ и тѣ измѣненія пищевыхъ средствъ, которыя происходятъ въ кашеномъ каналѣ подъ вліяніемъ находящихся тамъ энзимъ при актѣ пищеваренія:—превращеніе крахмала въ декстринъ и сахаръ ²⁾, расщепленіе жира на глицеринъ и жирную кислоту, превращеніе глукотена въ сахаръ и превращеніе тростниковаго сахара, подъ вліяніемъ инвертирующаго фермента, въ глюкозу—во всѣхъ этихъ случаяхъ мы имѣемъ дѣло съ присоединеніемъ воды, съ гидратациею, соединенной съ расщепленіемъ, воспринявшею воду, частицы органическаго вещества. Превращеніе бѣлка въ пептонъ тоже надо считать за процессъ гидратации, что особенно необходимо послѣ того, какъ

¹⁾ Учебникъ Физіологіи Германна, Химія пищеваренія проф. Р. Мали.

²⁾ При чемъ сложная частица крахмала, содержащая и $(C_6H_{10}O_5)_n$ расщепляется, воспринявшая воду въ количествѣ x частицъ, на сахаръ и декстринъ (Руков. къ физіол. Германна).

Henninger ¹⁾ и Hofmeister ²⁾ доказали, первый обрабатывая пептон ангидридом уксусной кислоты, а второй при нагревании пептона до 140—147°, что в условиях дегидратации из пептона можно вновь получить вещество, обладающее всеми качествами бѣла, какъ то: свертываемостью при нагревании, осаждаемостью тѣми солями тяжелыхъ металловъ, которыя пептона не осаждаютъ, осаждаемостью желтою кровяною солю-уксусная кислота и т. д. Подобное же гидратационное дѣйствие нужно признавать, по всей вѣроятности, и за тѣми ферментами, которые, въ противоположность другимъ, не разжижаютъ органическія вещества, а напротивъ того—свертываютъ ихъ; мы говоримъ сѣдъ здѣсь о фибринъ-ферментъ Al. Schmidt'a и сычужномъ ферментъ или т. н. «Labfermentъ» Hammarsten'a, ³⁾. Норре Seyler счтяетъ напр. наиболее вѣроятнымъ изо всѣхъ то предположеніе, что при свертываніи крови подъ вліяніемъ фибринъ-фермента происходитъ внутреннее измѣненіе молекулы фибриногена, соединенное съ воспріятіемъ воды ⁴⁾. Равнымъ образомъ и дѣйствие Labferment'a Hammarsten'a сводится, по мнѣнію этого ученаго, къ гидролитическому расщепленію казеина на 2 бѣлковыя тѣла, изъ которыхъ одно нерастворимо—сыръ.

§ 5. Перечислимъ главнѣйшіе изъ извѣстныхъ неорганизованныхъ ферментовъ. Ферментъ диастатической, превращающей крахмалъ въ глюкозу, т. е. собственно въ мальтозу, такъ какъ, по изслѣдованіямъ Dubrunfaut, O'Sullivan'a, а также Musculus'a и Mering'a ⁵⁾, при дѣйствіи растительнаго диастаза, слюны и сока поджелудочной желѣзы на крахмалъ появляется не виноградный сахаръ (впрочемъ, согласно Musculus'у при этомъ образуется и незначительное количество винограднаго сахара), а, главнымъ образомъ, мальтоза. Пенисъ и трипсины, дѣйствующіе на бѣлковыя тѣла, первый въ кислотъ, а второй въ особенности въ щелочной средѣ; ферментъ, расщепляющій жиры на глицеринъ и жирную кислоту; сычужный, превращающій растворимый казеинъ въ сыръ; фибринъ-ферментъ Al. Schmidt'a;

¹⁾ De la nature et du rôle physiologique des peptones. Comptes rend. LXXXVI, 1878.

²⁾ Ueber die Rückbildung von Eiweiss aus Pepton. Zeitschrift für. Phys. Chemie Bd. II, S. 206.

³⁾ Jahresberichte d. Thierchemie II, S. 118; IV, S. 135; VII, S. 158.

⁴⁾ Физиологическая Химія Голпе-Зейлера.

⁵⁾ Ueber d. Umwandlung. von Stärke u. Glycogen durch Diastas, Speichel Pancreas u. Leberferment Zeit. f. Phys. Chemie Bd. II, S. 402.

ферментъ, расщепляющій глюкозиды на глюкозу и другое; съ нею сочетанное тѣло, напр. эмульсия, разлагающій амигдалинъ на глюкозу, горькоминдальное масло и синильную кислоту, ферментное дѣйствие мирозина на органическія сѣру содержащія соединения, заключающіяся въ растеніяхъ сем. Cruciferae, напр. распадае миреновой кислоты, заключающейся въ сѣменахъ черной горчицы, на глюкозу, сѣрнокальцевую соль и горячечное масло; ферментъ, превращающій тростниковый сахаръ въ глюкозу и констатированный проф. Пашутинымъ въ слизистой оболочкѣ тонкихъ кишекъ и проч. Какъ извѣстно, дѣйствие неорганизов. ферментовъ крайне важно: безъ нихъ не могъ бы существовать ни одинъ животный или растительный организмъ, такъ какъ только благодаря неорганизов. ферментамъ, пищевыя органическія вещества могутъ сдѣлаться удобоусвояемыми. Конечно, какъ то справедливо говоритъ Hüfner (Ueber ungef. Fern. Journ. f. prak. Chemie N. F. Bd. 5, S. 372) и при помощи разныхъ химическыхъ агентовъ мы можемъ произвести тѣже измѣненія органическихъ веществъ, какія происходятъ и подъ вліяніемъ энзимъ. Но въ то время какъ химикъ для этого нуждается въ очень сильныхъ агентахъ, энзимы производятъ свойственныя имъ измѣненія органическихъ веществъ чрезвычайно легко, не нуждаясь для этого въ разныхъ вспомогательныхъ средствахъ напр. высокой т° и пр. Вспомнимъ напр., что слюнный ферментъ переводитъ крахмалъ въ сахаръ при сравнительно низкой т°, между тѣмъ, какъ химикъ для той же цѣли прибѣгаетъ къ кипяченію крахмала съ слабой сѣрной кислотой.

§ 6. Эти энзимы, какъ извѣстно, очень распространены въ животномъ и растительномъ царствѣхъ. Диастатическій ферментъ, заключающійся, главнымъ образомъ, въ слюнѣ и сокѣ поджелудочной желѣзы позвоночныхъ животныхъ, но, кромѣ того, находимый во многихъ другихъ тканяхъ и сокахъ этихъ животныхъ, напр. найденный Пашутинымъ, Вяттхопомъ и Эйхгорстомъ въ слизистой оболочкѣ тонкихъ кишекъ, а Béchamp и Baltus'омъ ¹⁾ даже въ мочѣ, добытой изъ мочеоточника у здоровой собаки, найденъ и у безпозвоночныхъ животныхъ, у которыхъ онъ, впрочемъ, часто вырабатывается, совместно съ другими энзимами, однимъ органомъ—печенью. Напр. Krukenberg напелъ, что печень рака вырабатываетъ не только диастатиче-

¹⁾ Béchamp et Baltus Comptes rend. T. 92.

ский фермент, но еще пепсин и трипсин¹⁾. В растительном царствѣ диастатическій ферментъ въ высшей степени распространенъ, встрѣчаясь не только въ проростающихъ сѣменахъ, распускающихся древесныхъ почкахъ²⁾; но, какъ это показалъ Baranetzky³⁾, въ большинствѣ растительныхъ тканей и преимущественно тамъ, гдѣ, какъ напр. въ проростающихъ, крахмалъ содержащихъ сѣменахъ, встрѣчаются отложения крахмала, которыя должны быть растворены и переведены въ сахаръ при образовании новыхъ тканей. Въ сѣменахъ же непроростающихъ Baranetzky находилъ или очень слабое, или даже никакого диастатическаго дѣйствія. Тоже и Brasse⁴⁾ высказываетъ за всеобщее распространение диастатическаго фермента въ растеніяхъ, а именно онъ находилъ этотъ ферментъ въ листьяхъ многихъ растений, какъ то: картофеля, Dahlia, свеклы, табаку и проч. И что важно, какъ увидимъ ниже, Brasse производилъ эти свои опыты въ условіяхъ антисептики, достигавшейся имъ прибавленіемъ хлороформа, который, по изслѣдованіямъ Müntz'a⁵⁾, не вредитъ, вообще, дѣйствию диастатическаго и другихъ неорганизованныхъ ферментовъ, убивая въ тоже время бактеріи⁶⁾.

§ 7. Ферменты, растворяющіе бѣлковыя вещества съ образованіемъ при этомъ пептоновъ, долго считались принадлежностью однихъ животныхъ организмовъ. У высшихъ позвоночныхъ, какъ известно, такихъ ферментовъ два: — пепсинъ, дѣйствующій въ кислой и трипсинъ — преимущественно въ щелочной средѣ. У беспозвоночныхъ встрѣчается или одинъ трипсинъ, иногда представляющій нѣкоторыя отличія отъ обыкновеннаго трипсина, приближающія его отчасти къ пепсину, напр. въ томъ отношеніи, что кислоты, по крайней мѣрѣ органическія, какъ напр. молочная, какъ то наметъ Krukenberg⁷⁾, меньше вредятъ проявленію его дѣйствія, чѣмъ обыкновеннаго трипсина. У нѣкоторыхъ беспозвоночныхъ по Krukenberg'у

¹⁾ Krukenberg. Untersuch. aus d. Phys. Institute d. Univ. Heidelberg, 1882.

²⁾ Payen et Persoz. Chimie Industrielle T. II.

³⁾ Baranetzky l. c.

⁴⁾ Compt rendus T. 99, p. 878.

⁵⁾ Sur les ferments chimiques et physiologiques. Comp. rend T. 80.

⁶⁾ Впрочемъ, нужно замѣтить, что Feltz (Expériences démontrant, que le chloroforme n'a aucune action, ni sur la septicité, ni sur les vibrations des sangs putréfiés. Jahrb. d. Tierch. d. Wien) не вполне согласенъ съ Müntz'емъ. А по Koch'у (Flügge, l. c.) хлороформъ на споры многихъ бактеріи не дѣйствуетъ.

⁷⁾ Krukenberg Unters. aus d. Phys. Instit. d. Univ. Heidelberg, 1882.

встрѣчается только одинъ пепсинъ въ качествѣ переваривающаго бѣлокъ фермента, а наконецъ встрѣчаются и такія безпозвоночныя, у которыхъ оба эти фермента встрѣчаются вмѣстѣ, притомъ, какъ сказано выше, вырабатываются они нрѣдко однимъ органомъ т. и. печенью, которая въ такомъ случаѣ служитъ единственною, ферменты образующею, пищеварительною желѣзю у этихъ животныхъ. Изученіе пепсина беспозвоночныхъ интересно въ томъ отношеніи, что здѣсь мы видимъ многія характерныя отличія отъ обыкновеннаго пепсина, такъ напр. пепсинъ многихъ улитокъ или Helicoperpsin, по Krukenberg'у, оказался лучше всего переваривающимъ бѣлокъ (фбринъ) не въ присутствіи соляной кислоты, а молочной и другихъ органическихъ кислотъ. Кроме того, эти пепсины, по Krukenberg'у, перевариваютъ только сырой, а не вареный фбринъ, какъ это дѣлаетъ обыкновенный пепсинъ.

§ 8. Какъ известно, и въ растеніяхъ найдены растворяющіе бѣлокъ энзимы, переводящіе бѣлокъ въ пептонъ. Такъ Дарвинъ и Hooker, первый въ растеніяхъ изъ рода Drosera, премущ. Drosera rotundifolia, а второй у разныхъ видовъ Nepenthes (Nep. phyllamphora, Nep. gracilis) находили ферментъ, растворяющій бѣлковыя вещества на подобіе пепсина, т. е. въ кислой средѣ, причемъ, впрочемъ, лучше всего дѣйствующею въ этихъ случаяхъ оказалась не соляная кислота и вообще не минеральныя кислоты, а муравьиная и яблочная, т. е. органическія кислоты (какъ это изъшло мѣсто и съ Helicoperpsin'омъ Krukenberg'a). Тоже самое нашелъ Gorup-Besanez и Will¹⁾, экспериментировавъ съ кислымъ сокомъ, выделяемымъ вышеказанными видами Nepenthes послѣ раздраженія железокъ этихъ растеній насыткомъ. Наоборотъ, нейтрально реагирующій сокъ, который выделялся на раздраженіи железами, не обладалъ переваривающимъ бѣлки дѣйствіемъ. Прибавленіе къ соку вышеказанныхъ органическихъ кислотъ, въ особенности муравьиной, оказалось крайне ускоряющимъ перевариваніе. Затѣмъ, Gorup-Besanez наметъ тоже въ проростающихъ сѣменахъ, премущ. вики и ячменя, ферментъ, дѣйствующій на бѣлки на подобіе пепсина, т. е. въ кислой средѣ²⁾. Кроме пептического, этотъ ферментъ, по Gorup-Besanez'у, оказывалъ и весьма сильное диастатическое дѣйствіе. Gorup-Besanez не

¹⁾ Just-Botanischer Jahresbericht, 1876.

²⁾ Berichte d. Deutschen Chemischen Gesell. zu Berlin, 1875, S. 1510.

старался изолировать друг от друга обеих ферментов, а прямо приписать одному и тому же ферменту способность производить сказанные изменения обеих родов органических веществ, т. е. крахмала и крахмала. Тоже и Van der Harst нашел пептической фермент в прорастающих сменах Phaseolus ¹⁾.

§ 9. Однако, по моим исследованиям, в прорастающих сменах (пшеницы, ржи и гороха) содержится скорѣе фермент триптический, а не пепсиный, ибо этот фермент растворяет, как я нашел, фибринъ лучше всего при нейтральной или слабосилой реакціи, причемъ сказанная кислотная реакція была уже найдена въ глицериновомъ раствѣрѣ самого фермента. Но въ присутствіи 0,2% HCl раствора и перевариванія фибрина, не происходило. Опыты свои я производилъ какъ съ глицериновыми вытяжками изъ проросшихъ зеренъ сказанныхъ растений, причемъ мелко истолченные зерна настаивались въ теченіи нѣсколькихъ дней ²⁾ съ чистымъ глицериномъ, въ плотно закрытой стеклянкѣ, а затѣмъ глицериновая вытяжка отфильтровывалась. Или же, для полученія фермента въ болѣе чистомъ видѣ, вышеописанный глицериновый вытяжки осаждались абсолютнымъ алкоголемъ и осадокъ оставался стоять 2 недѣли подъ спиртомъ. Послѣ чего осадокъ этотъ отфильтровывался, высушивался надъ сухой кислотой in Vacuo и завлекался водой. Оказалось, что 5—10 капель глицериновой вытяжки изъ проросшихъ зеренъ, прибавленныхъ къ 15—20 к. с. воды (дестиллированной), въ теченіи 12 часовъ и даже скорѣе (иногда 8—10 ч.) переваривали значительныя количества фибрина, лучше всего сырого и гораздо слабѣе варенаго, при нейтральной или слабосилой реакціи жидкости. При этомъ я долженъ замѣтить, что глицериновая вытяжка изъ проросшихъ сѣмянъ уже сами по себѣ обладали явственною реакціею. Фибринъ переваривался при t° 35—40° C. При этомъ онъ постепенно извѣдался (не набухалъ почти) и распадался наконецъ въ мелкіе куски, превращаясь даже въ мельчайшую пыль, оказавшуюся по своимъ реакціямъ, веществомъ съ характеромъ глобулина, что доказывалось растворимостью этой фибриновой пыли въ слабыхъ растворахъ NaCl, осаждеміемъ изъ этихъ растворовъ прибавленіемъ MgSO₄ въ сухомъ видѣ до насыщенія жидкости, осаждеміемъ —

¹⁾ Just-Botanischer Jahrsbericht, 1876, S. 867.

²⁾ Одного или двухъ.

при разведеніи раствора (солевого) — водою и пропусканіи CO₂ и, наконецъ, свертываніемъ при нагрѣваніи солевыхъ растворовъ. Въ жидкости же, полученной послѣ перевариванія фибрина, отфильтрованной отъ вышесказанной пыли, можно было доказать присутствіе пептона, при посредствѣ биуретовой реакціи, въ порядочномъ количествѣ. Подобнымъ образомъ переваривалъ а фибринъ не только глицериновая вытяжка изъ проросшихъ зеренъ, но и водный фильтратъ, полученный послѣ экстрагирования водою осадка, произведеннаго обработкою алкоголемъ глицериновой вытяжки и простоявшаго 2 недѣли подъ алкоголемъ. Въ присутствіи 0,2% HCl перевариваніе фибрина не проходило, а фибринъ только разбухалъ. Вышесказанные водные растворы фермента, будучи разъ прокипячены, теряли вполне свою пищеварительную силу. Затѣмъ несомнѣнно, что мы здѣсь имѣли дѣло съ ферментомъ неорганизованнымъ, а не съ проявленіемъ жизнедѣятельности какого нибудь микроорганизма, такъ какъ прибавленіе антисептическихъ средствъ, въ дозахъ уже убійственныхъ для бактерий, мало вредило сказанному перевариванію фибрина. Прибавленіе же антисептическихъ средствъ оказывалось необходимымъ потому, что въ осадкѣ, произведенномъ алкоголемъ въ глицериновой вытяжкѣ изъ проросшихъ зеренъ, какъ оказалось, находились бактерии (или ихъ споры), которыя послѣ 2 недѣльного пребыванія подъ абсолютнымъ спиртомъ, будучи послѣдны по моему просьбѣ Д-ромъ Вартауновымъ, дали пыльную разводку на агаръ-агаръ, желатинъ и бульонъ ¹⁾. Полученныя культуривировкой въ этихъ средахъ бактерии, оказавшіяся способными разжигать желатинъ, будучи прибавлены въ самомъ маломъ количествѣ къ прокипяченной водѣ, куда были положены прядный кусокъ сырого фибрина, въ теченіи одной ночи при t° 35—40° C. растворили фибринъ, при чемъ въ жидкости можно было констатировать присутствіе пептона и, въ особенности, громаднаго количества глобулина ²⁾. Я, собственно, не вдаюсь въ ближайшее разсмотрѣніе этихъ бактерий, а желаю только показать, на сколько важно во всѣхъ подобныхъ

¹⁾ При этомъ я работаю такъ, что бактерии врядъ ли могли попасть изъ воздуха въ глицеръ, напр. вытяжку, ибо зерна, хорошо промытыя, толкались въ прокол. ступкѣ, колба нагрѣвалась до 130° въ теченіи долгаго времени.

²⁾ Контрольная же проба такого же фибрина, но положенная въ одну прокип. воду безъ прибавки бактерий, за это время нисколько не измѣнилась.

опытах принимать предосторожность против развития в пищеварительных жидкостях микроорганизмов, которые могут своею жизнедеятельностью воспроизвести те же изменения бѣлковыхъ веществъ (фибрина), какъ и ферменты неорганизованные (живны).

§ 10. Кромѣ сказанныхъ растений, растворяющій бѣлокъ ферментъ найденъ еще въ сокѣ *Carica papaya*, т. я. *papayotin*'а, который, по изслѣдованіямъ Wurtz'a, Bouchut и Sidney H. C. Martin'a ¹⁾ болѣе всего подходитъ по своему дѣйствию къ трипсину, переваривая фибринъ лучше всего въ нейтральной или даже слабощелочной, но не кислой средахъ. На мои опыты показали противное: *papayotin* ²⁾ именно оказался лучше всего растворяющимъ фибринъ въ кислой средѣ (0,2% HCl), подобно пепсину, хуже въ нейтральной и еще хуже въ щелочной; однако перевариваніе происходило даже и въ 1/2—1% растворѣ соды. Въ нейтральной средѣ фибринъ (перевариваніе происходило при t° 35—40° C.) развѣдвался и распадался безъ предшествующаго набуханія, подобно тому, какъ это происходитъ отъ дѣйствія трипсина. Съ другой же стороны, мой *papayotin* дѣйствовалъ замѣтно только на сырой, а не на вареный фибринъ. Но за то, какъ сказано выше, перваго рода фибринъ онъ растворялъ очень быстро при t° 35—40° C. именно въ кислой средѣ (0,2% HCl), въ теченіи 15—20 минутъ, съ образованіемъ пептона, опредѣляемаго при посредствѣ биуретовой реакціи. При этомъ я долженъ сказать, что такъ какъ въ *papayotin*'ѣ уже содержится пептоны, то, чтобы судить о появленіи ихъ при перевариваніи фибрина, дѣлалась всегда контрольный опытъ: опредѣлялась степень окраски, даваемой растворомъ одного *papayotin*'а и такого же количества этого раствора, послѣ перевариванія фибрина. Разница получалась громадная. Мнѣ незачѣмъ прибавлять, что кипяченіе вполне уничтожало такое переваривающее дѣйствіе *papayotin*'а и что контрольная проба, сдѣланная съ одной HCl (0,2%), безъ *papayotin*'а въ такое же время не показала ни малѣйшаго растворенія фибрина. Поэтому въ *papayotin*'ѣ мы имѣемъ смѣсь двухъ ферментовъ: пептического и триптического, судя по его способности растворять и переводить въ пептонъ бѣлки (фибринъ) какъ въ кислой (0,2% HCl), такъ и щелочной средахъ.

¹⁾ The Journal of Phys. Vol. V и VI.

²⁾ У меня былъ препаратъ отъ Merck'a.

Сюда же относятся и наблюденія Scheurer—Kestner'a, согласно которому при броженіи хлѣбнаго тѣста образуется пептический ферментъ (Comp. rend. T. 90, p. 369). Sur un ferment digestif qui se produit pendant la panification.

§ 11. Мы не станемъ подробно останавливаться на описаніи распространенія другихъ неорганизованныхъ ферментовъ въ животномъ и растительномъ царствахъ. Скажемъ только, что ферментъ инвертинъ, превращающій тростниковый сахаръ въ сахаръ инвертированный, т. е. смѣсь правой и лѣвой глюкозы, по формулѣ $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = 2C_6H_{12}O_6$ и находится въ организмѣ животныхъ мы уже говорили, очень распространенъ и въ царствѣ растительномъ, по крайней мѣрѣ если не у высшихъ, то у низшихъ растений. Такъ, напр., онъ находится въ дрожжахъ, какъ это показали Berthelot ¹⁾ и можетъ быть отуда изолированъ. Но объ этомъ мы скажемъ ниже.

§ 12. Ферментъ сычужный или «Labferment» Hammarsten'a, свертывающій молоко при нейтральной или даже слабощелочной реакціи, находимый преимущественно въ желудкѣ телятъ, встрѣчается не только у животныхъ, но также найденъ и въ растенияхъ. Такъ Baginsky ²⁾ наметилъ, кромѣ *Carica papaya*, еще и въ нѣкоторыхъ другихъ растенияхъ, напр. въ винныхъ ягодахъ, артишокахъ и пр. сычужный ферментъ, свертывающій молоко при нейтральной или даже слабощелочной реакціи жидкости.

§ 13. Въ такомъ положеніи находились наши свѣдѣнія о дѣйствіи неорганизованныхъ ферментовъ, когда было найдено, что процессы броженія вызываются низшими организмимами и что при этихъ процессахъ получаютъ, нерѣдко, те же продукты, которые происходятъ и отъ дѣйствія ферментовъ неорганизованныхъ. Дѣйствительно, возьмемъ напр. хоть гниеніе бѣлка: мы знаемъ нѣблизкій рядъ гнилостныхъ бактерій, дѣйствіемъ которыхъ бѣлокъ распадается, причемъ, кромѣ другихъ продуктовъ, появляются: глобулины, пептоны, лейцинъ, тирозинъ и пр. Вотъ напр. перечень нѣкоторыхъ изъ такихъ бактерій ³⁾. *Bacillus putrificus coli* производитъ: пептоны, аммиакъ, жирныя кислоты, тирозинъ, фенолы, индолъ, скатолъ и пр. *Proteus*

¹⁾ Sur la fermentation glucosique du sucre de canne Comp. rend. T. 50. 1860, P. 980.

²⁾ Ueber d. Vorkommen und Verhal. einiger Fermente. Zeit. f. Phys. Chem. 1883. Bd. VII.

³⁾ Flügge. Die Mikroorganismen, 1886.

vulgaris, mirabilis Zenkeri—пептонъ и воючіе газы. Bacillus fluorescens liquefaciens—пептонъ, летучія жирныя кислоты, зеленый пигментъ. Bacillus butyricus Hueppe—пептонъ, лецитинъ, тирозинъ, аммиакъ, горькія вещества. Bacillus ruosauanus—пептонъ, аммиакъ. Bacillus janthinus—пептонъ, аммиакъ. Дѣйствіе этихъ бактерій прослѣжено болѣе или менѣе въ чистыхъ культурахъ. Но кромѣ того вообще извѣстно, что весьма многія бактеріи, культивируемыя на желатинѣ, разжижаютъ ее. Кромѣ пептонизирующаго дѣйствія на бѣлки, многія бактеріи въ состояніи производить и другія гидролитическія измѣненія другихъ органическихъ веществъ, вполнѣ сходныя съ тѣми измѣненіями, которыя производятъ ферменты неорганизованные. Такъ бациллы молочнаго броженія, по Hueppe ¹⁾, инвертируютъ молочный сахаръ, тростниковый и мальтозу въ глюкозу, причемъ дисахараты, воспринимая частицу воды, расщепляются на двѣ глюкозы. Эти же бациллы обладаютъ рѣзко выраженнымъ диастазическимъ дѣйствіемъ на крахмалъ. Напротивъ того, бактерія, производящая масляное броженіе, не обладающая инвертирующею способностью, можетъ зато производить свертываніе казеина на подобіе сычужнаго фермента съ послѣдующею его пептонизаціею, чего бациллы молочнаго броженія не производятъ. Вообще способность свертывать казеинъ молока присуща очень многимъ бактеріямъ, такъ какъ пептонизація бѣлковыхъ веществъ молока (казеина) обыкновенно предшествуетъ «сычугообразное» его свертыванію. Такое свертываніе казеина производятъ напр. Bacil. ruosauanus, sarcina aurantiaca и пр. Изъ другихъ гидролитическихъ процессовъ, производимыхъ микроорганизмами, укажемъ на целочное броженіе мочи, производимое Microc. Uraee (Torula Uraee) причемъ мочевины, воспринимая 2 частицы воды, переходятъ въ углекислый аммоній, а это есть чистая гидратация.

§ 14. Всѣ эти эффекты вначалѣ объяснялись просто такъ, что бактеріи своимъ жизненнымъ актомъ производятъ *въ* выше поименованныя измѣненія, которыя, стало быть, неразлучно связаны съ самою жизнью извѣстныхъ низшихъ организмовъ и отдѣлены отъ нихъ быть не могутъ. Напр., Pasteur объяснялъ процессы броженія такъ, что микробы, будучи лишены доступа свободнаго кислорода, разлагаютъ молекулу, подлежащаго бро-

¹⁾ Hueppe, Unters. über die Zersetzung der Milch durch Mikroorganismen, Mittheil. aus. d. Kaiserlichen Gesundheitsamte, 1884.

женію, органическаго вещества и воспринимаютъ освобождающійся изъ молекулы кислородъ. На этомъ основаніи, какъ извѣстно, Pasteur и раздѣляетъ микроорганизмы на aërobies, требующіе для своей жизни неуремѣнно присутствія свободнаго кислорода воздуха, и anaërobies, которые могутъ жить и безъ свободнаго кислорода; но въ такомъ случаѣ эти anaërobies должны, съ цѣлью питанія, разлагать, способныя къ броженію, органическія вещества, слѣд. именно эти anaërobies и притомъ именно при отсутствіи свободнаго кислорода и производятъ явленія броженія. Pasteur говоритъ: la fermentation est la conséquence de la vie sans gaz oxygène libre. Но, какъ извѣстно, такой взглядъ Pasteur'a на процессы броженія не подтвердился. Хотя, какъ говоритъ Flügge, явленія броженія и сводятся, по всей вѣроятности, къ интрамолекулярному дыханію; но, тѣмъ не менѣе, извѣстно, что для произведенія многихъ явленій броженія доступъ свободнаго кислорода положительно необходимъ, напр. для молочнокислаго броженія (Hueppe) въ другихъ же случаяхъ, какъ напр. при масляномъ броженіи, опыты доказали, что въ бродящей жидкости вестакъ кислорода присутствуетъ, хотя и въ очень незначительныхъ количествахъ, а въ остальныхъ случаяхъ, наконецъ, хотя броженіе можетъ происходить и при почти полномъ отсутствіи свободнаго кислорода, но, тѣмъ не менѣе, и увеличенный притокъ кислорода процессу броженія не вредитъ, по крайней мѣрѣ до извѣстной границы, а даже помогаетъ. Такъ Gunning ¹⁾ нашелъ, что, по видимому, лишняя вовсе кислорода среда, въ которыхъ происходили процессы гниенія, при болѣе точномъ изслѣдованіи, оказывались содержащими еще кислородъ, хотя и въ малыхъ количествахъ. A. Jeanneret ²⁾ говоритъ, что гнильные процессы, вызываемые организмами кишечника, какъ разложеніе азотистыхъ веществъ, такъ равно и углеводовъ, могутъ происходить въ присутствіи или отсутствіи воздуха. Такимъ образомъ, положеніе, высказанное Pasteur'омъ, не можетъ быть принято въ столь рѣзкой формѣ, безъ многихъ существенныхъ измѣненій. Напротивъ того, Liebig и Hoppe-Seyler доказывали, что броженіе не связано неуремѣнно съ жизненнымъ актомъ

¹⁾ Ueber d. Lebensfähig. der Spaltpilze bei fehlendem Sauerstoff. Journ. f. prak. Chemie Bd. XX, 1879.

²⁾ Zersetz. d. Gelatine u. Eiweisses durch die geform. Pankreas Fermente bei Luftausschluss, Jahresh. d. Tierch. Bd. 7 u. Journ. für praktische Chemie N. F. XV 1877.

известных микроорганизмов. Hoppe-Seyler ¹⁾ объяснить все процессы брожения действием чисто химических ферментов, которые, хотя и воспроизводятся низшими организмами, но из них затѣм могут быть изолированы и, полученные в чистом видѣ, без примѣси бактерий, они (химические ферменты) должны воспроизводить полную картину брожения. Онъ говоритъ ²⁾: подобно тому, какъ человекъ производитъ диастатическій ферментъ, пепсинъ, трипсинъ и т. д., имѣютъ и все животныя и растенія свои ферменты, но они не тождественны съ этими ферментами. То же и Liebig, указывая на возможность выделить ферменты изъ клѣтокъ вышшихъ животныхъ, высказываетъ противу мысли, что брожение воспроизводится непосредственно живеннымъ актомъ бактерий. Но Nencki, Kühne и др. дѣлаемъ рядомъ опытовъ доказали, что между дѣйствиемъ собственно неорганизованныхъ ферментовъ и гниениемъ или брожениемъ, произведенными низшими организмами, существуетъ дѣлая пропасть. Kühne, какъ известно, экспериментировалъ надъ панкреатической железой, желая строго отдѣлить процессъ перевариванія бѣлка, зависящій отъ дѣйствія трипсина, отъ гнилостныхъ процессовъ, которые столь легко происходятъ въ сожкѣ и настоѣ панкреатической железы. Для разъединенія этихъ двухъ процессовъ, Kühne примѣнялъ салациловую кислоту ³⁾. Kühne бралъ 80 грм. мелко измельченной pancreas быка, размѣшивалъ въ 2 литрахъ воды и прибавлялъ туда 4 грм. салациловой кислоты. Тогда, по прошествіи нѣсколькихъ часовъ, наступало при 40°C. полное раствореніе ткани железы, появлялась масса пептоновъ, появлялись лейцинъ и тирозинъ, но не появлялся ни индола, ни горючихъ газовъ, ни амміака и т. д. которые, какъ показалъ Nencki ⁴⁾, появляются при гниеніи бѣлковыхъ веществъ ⁵⁾. Такимъ образомъ, рѣзко ставилась грань между процессами гниенія, при которыхъ молекула бѣлка со-

¹⁾ Ueber d. Prozesse der Gährungen und ihre Beziehung zum Leben d. Organismen Pfleger's Archiv Bd. XII, 1876.

²⁾ I. e. а также Ueber Gährungsprozesse. Zeitr. f. Phys. Chemie Bd. II 1878.

³⁾ Jahresbericht d. Thierchemie VI. 1876. Ueber d. Verhalten verschied. organ. und anorg. Fermente, S. 272.

⁴⁾ Ueber die Zersetzung der Gelatine und d. Eiweisses bei d. Fäulniss mit Pancreas, а также въ Berichte d. Deuts. Chem. Gesell. 1876. S. 300.

⁵⁾ И. Васильевъ же (Zeit. f. phys. Chemie Bd. VI, S. 112), примѣняя каломель, тоже исключилъ гнилостные процессы и пришелъ къ тѣмъ же выводамъ, что и Kühne.

вершенно распалась и образовалась масса, сравнительно, простыхъ веществъ и дѣйствиемъ на эти же бѣлки неорганизованныхъ ферментовъ, дѣйствіе которыхъ сводилось къ гидратціи бѣлка, къ образованію пептона и немногихъ другихъ гидратационныхъ продуктовъ ¹⁾. Однако, не надо забывать, что, сравнительно, столь простая вещества, какъ лейцинъ, по строенію своему представляющій амидо-капроновую кислоту и тирозинъ, представляющій собою, какъ то показали Бартъ, Бейльштейнъ и Кульбергъ, по всей вѣроятности, оксифенилъ амидо-пропионовую кислоту пара ряда, имѣющую строеніе $\text{OHC}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{N H}_2) \text{CO}_2\text{H}$ и называющуюся также амидо-гидро-паракумаровою кислотою, равно какъ и аспарагиновая кислота, которая есть амидоантарная кислота, — получаютъ при трипсиновомъ перевариваніи бѣлковъ и безовсякаго участія низшихъ организмовъ. Конечно, фактъ этотъ доказываетъ только, что гидрататическое расщепленіе подъ влияніемъ энзимъ можетъ идти довольно далеко; но не опровергаетъ факта гидратационнаго дѣйствія энзимъ, ибо по опредѣленіямъ Schützenberger'a (Comp. rend. T. 80, p. 232) лейцинъ, тирозинъ и другія амидо кислоты получаютъ изъ бѣлковъ при дѣйствіи Ва (НО), т. е. подъ влияніемъ гидратанціи бѣлковъ. Съ другой же стороны, удалось въ болѣе или менѣе чистомъ видѣ изолировать дѣлный рядъ химическихъ, растворимыхъ энзимъ, произведенныхъ бактеріями, причемъ эти энзимы производили известныя ферментныя измѣненія данныхъ органическихъ веществъ и безъ дальнѣйшей помощи бактерий. Такимъ образомъ, какъ бы подтверждался вышесказанный взглядъ Liebig'a и Hoppe-Seyler'a, согласно которому бактерии только воспроизводятъ химическій, неорганизованный ферментъ, который, и послѣ отдѣленія отъ образованныхъ его бактерий, долженъ воспроизводить всю картину брожения ²⁾.

¹⁾ При чемъ, какъ то показалъ Hüfner, при дѣйствіи однихъ химическихъ энзимъ, напр. трипсина на фибринъ, не происходитъ развитія газовъ (учеб. физіол. Германия).

²⁾ Но, какъ будетъ изложено ниже, добытые изъ бактерий эти ферменты (не органы) или, какъ сказать, бактериальные энзимы, въ дѣйствительности броженія собственно не производятъ, а только нѣсколько измѣняютъ подлежащія броженію вещества, такимъ образомъ, что эти вещества, въ такомъ измѣненномъ состояніи, могутъ уже начать бродить.

257/19

ГЕРЕВІР 1936

БИБЛИОТЕКА
 Харківського Медич. Інституту

Положивъ, добытые бактерійные ферменты ¹⁾ съ одной стороны часто не были вполне чистыми:—нерѣдко они содержали еще бактеріи или споры ихъ и эффектъ поэтому выходилъ смѣшанный, ибо его можно было отчасти объяснить и непосредственнымъ дѣйствіемъ самихъ бактерій, помимо химическаго, неорганизованнаго фермента. Въ самомъ дѣлѣ, очевидно, что только тогда мы можемъ говорить о химическомъ, неорганизованномъ ферментѣ (энзимѣ), когда мы его, во-первыхъ, выдѣлили въ чистомъ видѣ, свободнымъ отъ примѣси другихъ веществъ и бактерій, напр. когда мы его получили въ чистомъ водномъ растворѣ и затѣмъ когда приняли предосторожности отъ вѣдренія бактерій во время производства опыта перевариванія. При этомъ, само собою, выдѣленный чистый ферментъ (неорганизованный) долженъ самъ по себѣ производить тѣ же химическія дѣйствія, какъ и тѣ бактеріи, которыя этотъ ферментъ произвели. Если предѣлать всё эти требованія, то увидимъ, что только немногіе химическіе ферменты (энзимы), выработанные бактеріями, могутъ считаться безусловно чистыми.

Но рассмотримъ имѣющіеся у насъ относительно вышесказаннаго факты.

§ 15. Старое наблюденіе Helmholtz'a доказывало, что дѣйствіе дрожжей не проходитъ черезъ раздѣляющія перепонки, между тѣмъ какъ гніеніе проходитъ, что можно было объяснить только образованіемъ во время гніенія растворимыхъ, химическихъ ферментовъ (энзимъ). Въ то же время Mitscherlich ²⁾ нашелъ въ водномъ растворѣ дрожжей вещество, которое измѣняло вращательную способность тростниковаго сахара, а затѣмъ Berthelot ³⁾, осаждая алкогольемъ водный настой дрожжевыхъ кѣлѣтокъ, приготовилъ химическій, растворимый ферментъ — *инертимъ*, имѣющій способность превращать тростниковый сахаръ въ глюкозу, что конечно, необходимо при алкогольномъ броженіи, такъ какъ тростниковый сахаръ непосредственно къ алкогольному броженію не способенъ. Изолировавъ этотъ ферментъ, Berthelot съ одной стороны доказалъ, что превращеніе тростниковаго сахара въ глюкозу, предшествующее алкогольному броженію

¹⁾ Бактерійнымъ ферментомъ я здѣсь называю неорганизованный, химическій ферментъ (энзимъ), произведенный бактеріями и изъ нихъ изолированный.

²⁾ Ueber die Gährung. Monatsberichte der Berliner Academie, 1843.

³⁾ Berthelot. Sur la fermentation glucosique du sucre de canne Comp. rend. T. 50.

тростниковаго сахара, совершается не янтарной кислотой, образующеюся при алкогольномъ броженіи, какъ то думалъ Pasteur, а съ другой стороны онъ показалъ, что, добытый имъ инвертинъ, не способенъ превзвестъ алкогольнаго броженія глюкозы и что дѣйствіе его ограничивается одною только гидратаціей тростниковаго сахара. И тѣмъ не менѣе, однако, Berthelot говоритъ: «Je pense, que ce végétal (la levûre), n'agit pas sur le sucre en vertu d'un acte physiologique, mais simplement par les ferments qu'il a la propriété de sécréter au même titre, que l'orge germée sécrète la diastase, les amandes sécrètent l'émulsine, le pancréas d'un animal sécrète la pancréatine et l'estomac du même animal sécrète la pepsine!»

Кромѣ дрожжей, Bourquelot ⁴⁾ нашелъ, что изъ культуры *Aspergillus niger* можно выдѣлить и приготовить въ чистомъ видѣ растворимый въ водѣ, химическій ферментъ (энзимъ), имѣющій свойство превращать тростниковый сахаръ и мальтозу въ сахаръ виноградный.

§ 16. Musculus ⁵⁾ добылъ, осаждая алкогольемъ щелочно-бродящую мочу, выдѣляемую лицами, страдающими катаромъ мочеваго пузыря, т. е. содержащую много слизи, ферментъ, растворимый въ водѣ, который имѣлъ способность вызывать очень быстро переходъ мочевины въ углекислый аммиакъ, т. е. гидратацию мочевины, по формулѣ $\text{CO}^{\text{NH}_2} + 2\text{H}_2\text{O} = \text{CO}_2(\text{NH}_2)_2$. Конечно, водный растворъ этого фермента не былъ вполне чистъ, но въ виду того, что нагреваніе его даже въ сухомъ видѣ до 80° С. вполне его разрушаетъ (между тѣмъ, какъ организованные ферменты много выносили въ отношенію къ т⁶⁾), что карболовая кислота (феноль), легко убивающая организованные ферменты (микроорганизмы), на него не дѣйствуетъ, между тѣмъ, какъ кислоты: сѣрная, соляная, уксусная, азотная и салициловая уничтожаютъ его дѣйствіе даже въ очень слабыхъ разведеніяхъ, подобно тому, какъ онѣ вредно дѣйствуютъ и на диастатическій ферментъ слюны, надо признавать, что ферментъ, добытый Musculus'омъ, ничего общего

⁴⁾ Comp. rend. T. 97.

⁵⁾ Ueber die Gährung d. Harnstoffs. Pflüger's Archiv, Bd. XII, S. 214 и Comp. rend. T. LXXIII.

⁶⁾ Какъ извѣстно, Musculus такимъ образомъ приготовилъ реагентную бумажку на мочевины, т. е. бумагу пропитанную его ферментомъ и всушенную, такъ наз. „Ferment-Papier“ für Harnstoff, которая, будучи сверху того еще пропитана куркумой, бурзла при погруженіи въ растворъ мочевины.

сть ферментами организованными (микроорганизмами) не имѣлъ, т. е. что онъ, будучи изолированъ, могъ оказывать свое дѣйствие на мочевины и безъ содѣйствія низшихъ организмовъ. Но такъ какъ щелочное брожение мочи вызывается, какъ извѣстно, извѣстнымъ микроорганизмомъ, то очевидно, что этотъ микроорганизмъ производитъ сказанное брожение не непосредственно своимъ жизненнымъ актомъ, а вырабатываетъ только химическій ферментъ, который уже является производящимъ брожение мочевины агентомъ. Этотъ ферментъ Laidreau¹⁾ нашелъ очень распространеннымъ въ почвѣ, въ атмосферномъ воздухѣ, въ водѣ, какъ находящейся на поверхности земли, такъ и почвенной, и приписываетъ ему важное значеніе въ общей экономіи природы, такъ какъ, благодаря ему, мочевины, выделяемая животными, претерпѣваетъ измѣненіе въ углекислый амміакъ, что важно для ассимиляціи растениями. Такъ какъ, добытый Laidreau, ферментъ, оказывалъ свое дѣйствие на мочевины и въ присутствіи разныхъ антисептическихъ средствъ, которыя, за исключеніемъ впрочемъ хлороформа, мало ему вредили, то, по всей вѣроятности, ферментъ этотъ былъ неорганизованный (химическій энзимъ).

§ 17. Послѣ этого Marcano²⁾ нашелъ въ поверхностныхъ клѣткахъ зеренъ маиса особый микроорганизмъ, представляющійся въ видѣ вибриона и дающій споры, который имѣетъ свойство вызывать алкогольное брожение маисовой муки. Если такую бродящую смѣсь фильтровать при помощи искусственной пустоты черезъ глиняные, пористые цилиндры, то мы получимъ растворъ, свободный отъ бактерий, который, будучи даже обработанъ хлороформомъ для убіенія и тѣхъ бактерий, которыя бы могли еще находиться въ такомъ растворѣ, оказался обладающимъ сильнымъ диастатическимъ дѣйствіемъ на крахмалъ. Но если хлороформъ прибавлялся къ смѣси, содержавшей растертыя маисовыя зерна съ водою, до начала броженія и этимъ убивались бактерии прежде, чѣмъ онѣ успѣли воспроизвести диастатическій ферментъ, то фильтратъ, полученный при посредствѣ процѣживанія черезъ сказанные глиняные цилиндры, никакого диастатическаго эффекта не обнаруживалъ при дѣйствіи на крахмальный клейстеръ. Производя культуры своего микроба, Marcano въ питательной жидкости, въ которой раз-

¹⁾ Comp. rendus, T. 90.

²⁾ Comp. rend. T. 95, 1882.

вился этотъ микробъ, находилъ сильное диастатическое дѣйствие, даже послѣ фильтрованія жидкости черезъ глиняные цилиндры и обработки жидкости хлороформомъ. Очевидно, что и здѣсь химическій ферментъ (диастазъ) былъ выработанъ бактеріями.

§ 18. Затѣмъ Wortmann¹⁾ доказалъ, что глистостныя бактеріи, развивающіяся на гниющемъ картофелѣ или гниющихъ бобахъ, имѣютъ способность растворять крахмалъ, превращая его въ сахаръ, ежели у нихъ не будетъ въ распоряженіи никакой бѣлковой пищи. Это дѣйствие, оказываемое бактеріями на крахмалъ, Wortmannъ приписываетъ диастатическому, неорганизованному ферменту, выделяемому бактеріями.

Ферментъ этотъ Wortmannъ осаждалъ алкоголемъ изъ смѣси, содержавшей сказанныя бактеріи, полученныя культивировкой въ питательной средѣ, въ которую онъ прибавлялъ: NaCl, Mgso₄, KNO₃, NH₄(H₂PO₄), и крахмалъ, который долженъ былъ доставлять бактеріямъ нужный имъ углеродъ и безъ котораго онѣ не могли бы выработать своего фермента. Затѣмъ, изъ этого алкогольнаго осадка Wortmannъ извлекалъ ферментъ водою, вновь осаждалъ его алкоголемъ и, повторяя эту процедуру нѣсколько разъ, онъ, какъ полагаетъ, отдѣлялъ ферментъ отъ бактерий и растворъ этого (неорганизованнаго) фермента оказался обладающимъ сильнымъ диастатическимъ дѣйствіемъ на крахмальный клейстеръ, превращая его въ сахаръ. Wortmannъ говоритъ, что его бактеріи только тогда производятъ этотъ диастатическій ферментъ, когда онѣ, во-первыхъ, лишены бѣлковой пищи и, во-вторыхъ, когда имъ предоставленъ въ пользованіе свободный кислородъ. Растворъ же бактерійнаго диастаза производитъ свое дѣйствие и при отсутствіи свободнаго кислорода. Слѣд., говоритъ онъ, такъ какъ, по сдѣланнымъ имъ наблюденіямъ, при отсутствіи свободнаго кислорода, бактеріи нѣсколько не вліяютъ на крахмалъ, то еслибы даже въ растворѣ бактерійнаго диастаза и находились еще бактеріи, онѣ, при отсутствіи свободнаго кислорода, не могли бы проявлять никакого дѣйствія на крахмалъ. Однако, при всемъ томъ, способъ Wortmann'a не можетъ быть названъ безупречнымъ и не даетъ вполнѣ чистаго отъ бактерій неорганизованнаго фермента. Дѣйствительно, растворъ фермента у Wortmann'a проявлялъ диастатическое вліяніе на крахмалъ только по прошествіи 24 часовъ дѣйствія, т. е.

¹⁾ Ueber das diastatische Ferment der Bacterien. Zeit. f. Phys. Chemie, Bd. VI, 1882, S. 286.

когда изъ оставшихся бактерійныхъ споръ могли уже развиться взрослые бактеріи. Между тѣмъ, какъ известно, дѣйствіе неорганизованнаго фермента (діастаза) должно проявляться очень скоро. — Съ другой стороны, наблюдение Wortmann¹⁾, что въ присутствіи бѣлковыхъ веществъ гниlostыны бактеріи не производятъ діастатическаго фермента, намъ кажется не согласнымъ съ опытами Seegen'a, Kratschmer'a²⁾, а также и моими (которые я опишу ниже), согласно которымъ, начинающія разлагаться, бѣлковыя вещества содержать, діастатически на крахмалъ дѣйствующій, неорганизованный ферментъ.

§ 19. Растворяющій бѣлки ферментъ, переводящій ихъ въ пептоны, по всей вѣроятности, долженъ вырабатываться очень многими бактеріями. Быть можетъ, что всѣ бактеріи, разжижающія желатину, производятъ это разжиженіе при посредствѣ, вырабатываемаго ими, растворяющаго бѣлокъ и клей, фермента³⁾. Однако, если, какъ мы видѣли, удалось во многихъ случаяхъ изолировать въ довольно чистомъ видѣ разные неорганизованные ферменты (энзимы) отъ производящихъ ихъ бактерій, то этого никакъ образомъ нельзя сказать о пептонизирующахъ бѣлокъ энзимахъ, вырабатываемыхъ бактеріями. Такъ проф. E. Salkowski⁴⁾ показалъ, что въ гниломъ финбригѣ образуется растворяющій бѣлокъ ферментъ, дѣйствующій и послѣ убіянія хлороформомъ производящихъ его бактерій. Но Salkowski не выдѣлялъ этого фермента въ чистомъ видѣ. Bitter⁵⁾ добылъ пептонизирующій бѣлокъ ферментъ, выдѣленный Koch'овскими холерными бактеріями и, чтобы отдѣлить ферментъ отъ производящихъ его бактерій, онъ нагревалъ смѣсь этихъ бактерій (содержавшихъ уже и готовый (неорганизованный) ферментъ) въ теченіи $\frac{1}{2}$ часа при t° 60°, послѣ чего ферментъ, который разрушается только при 80°, все еще оказывался дѣйствующимъ на бѣлки. Оба эти пептонизирующіе бѣлокъ фермента дѣйствуютъ на подобіе трипсина, т. е. въ щелочной средѣ. Сюда же я могу причислить и свои опыты, а именно: мнѣ удалось изъ нѣсколькихъ измѣненнаго, вслѣдствіе стоянія на воз-

¹⁾ Zur Kenntniss der Saccharificirenden Fermente, Jahresbericht d. Thierch. VII u. Pflüger's Archiv XIV, S. 593.

²⁾ Flügge, die Mikroorganismen.

³⁾ Ueber d. Eiweisslösende Ferment d. Fäulnisbacterien, Zeit. f. Biologie XXV, 1 u. Central. f. Phys. № 20, 1899.

⁴⁾ Ueber die Fermentabscheidung des Koch'schen Vibrio d. Chol. asiat. Schmidt's Jahrbücher за 1887, № 3, S. 235.

духъ, бѣлка куринаго яича извлекаю и получаю въ чистомъ видѣ, въ водномъ растворѣ, свободномъ отъ примѣси бѣлковыхъ веществъ, ферментъ, оказавшійся очень сильно дѣйствующимъ, на подобіе трипсина, на фибринъ. Опыты эти я опишу ниже. Здѣсь же скажу только, что на основаніи нѣкоторыхъ, ниже сообщаемыхъ опытовъ и соображеній, я могу заключать, что и у меня подобное превращеніе бѣлка изъ состоянія недѣятельнаго въ ферментъ, по всей очевидности, произошло не вслѣдствіе дѣйствія одного только кислорода воздуха, а именно при помощи бактерій. Такъ какъ дабы опыты перевариванія съ помощью образовавшагося фермента я производилъ въ условіяхъ антисептическихъ, то, очевидно, и имѣлъ дѣло съ ферментомъ неорганизованнымъ, который, будучи выдѣленъ, могъ уже затѣмъ и безъ помощи бактерій проявлять свое дѣйствіе.

§ 20. Если теперь мы бросимъ взглядъ на вышеописанные опыты, въ которыхъ изъ бактерій (или средъ, замѣненныхъ этими бактеріями) удалось выдѣлить разные химическіе, неорганизованные ферменты, производящіе затѣмъ и безъ содѣйствія бактерій химическія, свойственныя имъ, измѣненія органическихъ веществъ, то, все таки, мы должны будемъ сказать, что этимъ, собственно, гипотеза Hoppe-Seyler'a о независимости броженія отъ жизненнаго акта бактерій по столько, что, будто бы, *esse* явленія броженія можно свести къ дѣйствію какаго нибудь чисто химическаго фермента, нисколько не подтверждается, такъ что по прежнему: «die Vermuthung zu gewagt ist, das nämlich im Organismus der Hefe ein Körper enthalten ist, der Zucker in Alkohol und CO₂ zerlegt»¹⁾, хотя Hoppe-Seyler и полагаютъ, что «eine Identificirung von Ferment mit den Organismen, in welchen es sich bildet, unzulässig ist». Дѣйствительно, всѣ эти, изолированные изъ бактерій, ферменты въ состояніи производятъ только обыкновенныя, уже извѣстныя, гидролитическія измѣненія органическихъ веществъ, измѣненія крайне важныя, какъ подготовительная ступень къ броженію, но не составляющія еще, собственно, процесса броженія. Такъ инвертинъ переводитъ тростниковый сахаръ только въ глюкозу, но не производитъ вовсе алкогольнаго броженія полученной глюкозы. Собственно же процессы броженія надо считать неразрывно связанными съ жизненнымъ актомъ самихъ бактерій и

¹⁾ Ueber Gährungsprocesse, Zeit. für Phys. Chemie. Bd. II.

не могущими продолжаться при отсутствии живых микроорганизмов. Так Ньерре ¹⁾ не мог выделить *химического* фермента, производящего молочнокислое брожение (а изменение молочного сахара в молочную кислоту, сопровождаемое выделением CO₂, надо считать за настоящее брожение) и опыты Al. Schmidt'a, который старался выделить такой химический фермент из молочно-кислой бродящей смеси, Ньерре по справедливости считает неубедительными, так как возможность присутствия и живых бактерий или спор их, у Schmidt'a не была исключена.

Действительно, Al. Schmidt поступал следующим образом: он осаждал уксусною кислотою казеин молока, причем в осадок вовлекался и фермент. Этот осадок извлекался глицерином и вытяжка глицериновая осаждалась алкоголем, послѣ чего из алкогольного осадка фермент извлекался водою. Но Ньерре, повторив опыты Al. Schmidt'a, нашел, что когда, добытый таким образом, фермент производил молочно-кислое брожение сахара, то в растворе этого фермента содержались уже и бактерии, а когда он брожения не вызывал, то и бактерий в нем не было. Следовательно, все дело было в томъ, что раствор фермента, который Al. Schmidt прибавлял къ молочному сахару, уже содержал бактерии молочно-кислого брожения, которая и произвели то, что Al. Schmidt приписал химическому, растворимому ферменту (энзиму). Действительно, Н. Mayer ²⁾, применяя разные антисептические средства, доказалъ, что ферментъ, производящій молочно-кислое брожение, долженъ быть организованнымъ, ибо действие его уничтожается такими средствами, которая на химические ферменты (энзимы) не обнаруживаютъ особеннаго влияния. А именно, ферментъ этотъ уничтожается: креозотомъ или карболовой кислотой (которая вообще на химические ферменты действуетъ слабо, см. ниже), хлороформомъ, горчинымъ масломъ, тиомоломъ и т. д. Другія же средства, напр., салициловая кислота, уничтожали этотъ ферментъ, будучи прибавлены въ такихъ дозахъ, которая убийственны для бактерий, но не для химическихъ энзимъ.

§ 21. Итакъ, резюмируя все вышесказанное, можно констатировать, что при актахъ брожения и гниения, неразрывно связанныхъ съ жизнедеятельностью низшихъ организмовъ, про-

исходитъ полное распаденіе молекулы органическаго вещества, между тѣмъ, какъ химическіе ферменты (энзимы) и даже тѣ изъ нихъ, которые вырабатываются бактеріями, производятъ только гидролитическія, не глубоко идущія расщепленія. Но вмѣстѣ съ этимъ мы видимъ, что всякому процессу собственно брожения всегда предшествуетъ гидратация и такъ какъ эта гидратация сложныхъ органическихъ веществъ, по всей вероятности, всегда происходитъ при помощи тѣхъ химическихъ ферментовъ, которые, съ цѣлью предварительной, такъ сказать, обработки материала, производятся низшими организмами, то изъ этого уже ясно, насколько могутъ быть важны въ дѣлѣ питания человѣка и другихъ высшихъ организмовъ тѣ продукты, которые составляютъ первую (гидролитическую) степень разбитія бактеріями сложныхъ органическихъ пищевыхъ веществъ.

II. Опыты, произведенные мною относительно изолированія растворимыхъ химическихъ энзимъ—диастатическаго и триптического—изъ нѣсколькихъ измѣнившихся объ влияния воздуха желтка и бѣлка куриного яйца.

§ 1. Матеріалъ для этихъ опытовъ былъ доставленъ мнѣ проф. Тархановымъ, предложившимъ мнѣ испытать ферментныя свойства, приготовленныхъ имъ, глицериновыхъ вытяжекъ изъ бѣлка и желтка куриного яйца. Поэтому, собственно, инициатива и мысль этихъ опытовъ принадлежать проф. Тарханову, а мнѣ—только исполненіе его предложенія. Результаты этихъ опытовъ я всегда демонстрировалъ проф. Тарханову. Конечно, мысль, что сложныя органическія вещества, т. е. бѣлки, измѣняясь, могутъ приобрѣтать ферментныя свойства, не нова. Не говоря уже напр., о томъ, что Zymogen ¹⁾ панкреатической железы, въ условіяхъ окисленія, напр., при проусканіи кислородомъ, переходитъ въ ферментъ трипсинъ (панкреатинъ), можно указать на опыты Seegen'a и Kratschmer'a ²⁾, которые показали, что весьма многія бѣлковые вещества, находящіяся въ періодѣ начинающагося разложенія, могутъ дѣйствовать слабо диастатически на крахмалъ. Однако у сказанныхъ авторовъ это диастатическое дѣйствіе проявлялось только послѣ нѣсколькихъ часовъ дѣйствія ³⁾. Поэтому, говорить объ выделеніи этими из-

¹⁾ Untersuch. über die Zersetzung d. Milch durch Mikroorganismen, I. c.

²⁾ Ueber d. Milchsäureferment und sein Verhalten gegen Antiseptica. Dissert. Dorpat, 1890, авторъ по Ньерре.

¹⁾ Podolinski. Beitrag zur Kenntniss des Pancreatischen Eiweißfermentes Pflüger's Archiv. Bd. XIII.

²⁾ Л. с. с.

³⁾ Руководство къ физиологіи Германа, Хамія пивоваренія профессора Р. Мали и Л. с.

сльдодателями диастатического фермента изъ измѣнившихся бѣлковыхъ веществъ никоимъ образомъ нельзя. И Seegen и Kratschner, потому, прямо говорятъ, что слабое диастатическое дѣйствіе вообще присуще всѣмъ растворимымъ бѣлковымъ веществамъ.

Какъ извѣстно, далѣе, проф. Пашутинъ показалъ, что настои слизистыхъ оболочекъ весьма многихъ органовъ обладаютъ слабымъ диастатическимъ дѣйствіемъ на крахмалъ. Но раньше еще Bouchardat ¹⁾ показалъ, что разныя бѣлковыя вещества, животнаго и растительнаго происхожденія, при своемъ разложеніи (гниеніи) приобрѣтаютъ диастатическія свойства, а Mulder ²⁾ считалъ превращающіе крахмалъ ферменты просто за бѣлковыя вещества, находящіяся въ извѣстномъ періодѣ разложенія ³⁾. Доступъ кислорода къ прорастающимъ сѣменамъ, — по Mulder'у, обуславливаетъ тѣ измѣненія бѣловыхъ веществъ, заключающихся въ растеніяхъ, благодаря которымъ эти вещества дѣлаются ферментами (диастатическими). О пептонизирующемъ бѣлокѣ ферментѣ, найденномъ Е. Salkowski, мы говорили выше. Но, кромѣ того, уже давно Е. Hüfner нашелъ во многихъ животнаыхъ тканяхъ, какъ то: легкяхъ, слюнныхъ железахъ, а также и *во многомъ сыръ* ферментъ, переваривающій фибринъ на подобіе трипсина и дѣйствующій, кромѣ того, еще диастатически на крахмалъ. Произведя элементарный анализъ этого фермента, Hüfner нашелъ, что добытый имъ ферментъ отличается отъ бѣловыхъ веществъ бѣльшимъ содержаніемъ кислорода въ своей частицѣ. Поэтому Hüfner высказалъ мысль, что неорганизованные ферменты происходятъ изъ бѣлковъ вслѣдствіе окисленія. Hüfner, Ueber ungef. Fermente und ihre Wirkungen. Journ. f. prak. Chemie, N. F. Bd. 5, S. 394, 1872 г. Сльдѣв., мысль искать ферменты (энзимы) въ измѣнившихся бѣловыхъ веществахъ была съ нашей стороны вполне законна и оставалось только выдѣлить (неорганизованные) гипотетическіе ферменты изъ взятыхъ для опытовъ матеріаловъ ⁴⁾

¹⁾ Bouchardat. Ann. de Chimie et de Phys. T. XIV. Sér. 3, p. 60, 1845.

²⁾ Цитирована по Baranetzky: Die Stärkumbildenden Fermente in d. Pflanzen.

³⁾ Приемъ молекулы такого бѣлового вещества переходить въ состояніе дивелія, въ дѣлательное состояніе.

⁴⁾ А. Baranetzky (Д. С.) нашелъ, что нѣрkedо вытяжки изъ растительныхъ тканей, не имѣвшихъ вначалѣ никакого диастатическаго дѣйствія, приобрѣтали таковое послѣ стоянія. Сюда можно также причислить и наблюденіе А. Pöhl'я (Zur Lehre von Pepton, Ber. d. Deutschen Chemischen Gesell. 1881, Bd. XIV, S. 1355), нашедшаго, что всѣ бѣлков. вещества переходятъ въ пептонъ при прикосновеніи съ животн. и растительными тканями.

§ 2. Какъ сказано, этими матеріалами служили бѣлокъ и желтокъ куринаго яйца, которые (въ совершенно свѣжемъ состояніи) были тщательно отдѣлены другъ отъ друга и простояли недѣлю подѣ стекляннымъ колоколомъ, надѣ сѣрной кислотой, подвергаясь постепенной сушкѣ посредствомъ періодически повторявшагося выкачиванія воздушнымъ насосомъ ¹⁾. Они сохранились все время при комнатной т°, т. е. около 16°C. Послѣ высушиванія, желтокъ и бѣлокъ (отдѣльно) были тщательно размѣшаны съ безводнымъ глицериномъ, съ которымъ они настаивались въ теченіи 2—3 дней при комнатной т°, для приготовленія изъ нихъ вытяжекъ, въ ватой закрытыхъ стеклянкахъ. Эти глицериновыя вытяжки, какъ изъ бѣлка, такъ и изъ желтка, показывали слабощелочную реакцію.

Прежде всего было испробовано диастатическое дѣйствіе этихъ вытяжекъ: по 6 капель глицериновой вытяжки изъ бѣлка и желтка были прибавлены къ 2 порціямъ 1% крахмального клейстера, полученнаго кипяченіемъ съ водою пшеничнаго крахмала и все поставлено при т° 40°C. въ термостатъ. Черезъ 10—15 минутъ, въ той порціи, куда была прибавлена глицериновая вытяжка изъ желтка, обнаружилось рѣзкое просвѣтлѣніе клейстера, который сдѣлался совершенно жидкимъ и Trommerовская проба показала обильное развитіе сахара (между тѣмъ, какъ въ самой глицериновой вытяжкѣ изъ желтка, ватой даже и въ большомъ количествѣ, эта же проба не обнаружила замѣтнаго пріеутствія сахара). Проба же съ глицериновой вытяжкой изъ бѣлка не показала, даже и послѣ нѣсколькихъ часоваго стоянія, ни малѣйшаго развитія сахара. Послѣ этого была провѣдана слѣдующій опытъ: прибавлено по 5 капель глицериновой вытяжки изъ желтка, растворенныхъ въ 5 куб. сант. дистиллированной воды, къ 2 порціямъ 1% крахмального клейстера. Но одинъ растворъ этой глицериновой вытяжки предварительно прокипяченъ, а другой — нѣтъ. И затѣмъ обѣ порціи поставлены въ термостатъ при 40°C. Черезъ 10—15 минутъ та проба клейстера, куда была прибавлена некипяченна глицериновая вытяжка изъ желтка, оказалась совершенно разжиженной, провѣдленной, такъ что только на днѣ сосуда оста-

¹⁾ Въ промежутокъ же между этими выкачиваніями, подѣ вынесеннымъ стекляннымъ колоколомъ находился обыкновенный атмосферный воздухъ, который и дѣйствовалъ на стояніе подѣ колоколомъ бѣлокъ и желтокъ.

вался небольшой отсыдь и Троммеровская проба обнаружила въ этой жидкости обильное развитіе сахара, между тѣмъ, какъ (проба крахмала съ прокипяченной глицериновой вытяжкой изъ желтка никакого разжиженія не обнаружила и ни малѣйшихъ слѣдовъ сахара въ ней, при Троммеровской пробѣ, даже и послѣ нѣсколькихъ часового дѣйствія, не найдено. Глицериновая же вытяжка изъ свѣжаго (не измѣненнаго отъ дѣйствія воздуха) желтка (и бѣлка) куриного яйца, никакого діастатическаго дѣйствія на крахмалъ не обнаруживала. Былъ сдѣланъ именно слѣдующій опытъ. Желтокъ и бѣлокъ изъ свѣжаго куриного яйца были (отдѣльно) прямо опущены въ абсолютный алкоголь. Затѣмъ, осадокъ былъ отфильтрованъ, высушенъ in Vacuo, растертъ въ порошокъ и поставленъ съ безводнымъ глицериномъ на нѣсколько дней. Эти глицериновые вытяжки не показывали ни малѣйшаго діастатическаго дѣйствія на крахмальный клейстеръ.

Очевидно, стало быть, что при *небольшомъ измѣненіи* (далеко не доходящемъ до гніенія) *куриного желтка отъ дѣйствія на него воздуха, въ желткѣ этомъ появлялся діастатическій ферментъ*, растворимый въ водѣ и могущій быть извлеченнымъ глицериномъ.

§ 3. Послѣ этого были мною испробованы глицериновые вытяжки изъ, измѣнившихся отъ дѣйствія воздуха, бѣлка и желтка куриного яйца на ихъ способностъ растворять бѣлокъ (фибринъ). Было взято по 2 к. с. той и другой вытяжки и разбавлено водою до 15 к. с., въ обѣ порціи положено одинаковое, приблизительно, количество хорошо промытаго фибрина изъ собачьей крови, и все поставлено на ночь при $t^{\circ} 35 - 40^{\circ} \text{C}$. На другой день тамъ, гдѣ была глицериновая вытяжка изъ бѣлка, произошло полное раствореніе фибрина, при чемъ въ жидкости была видна только мельчайшая пылъ. А тамъ, гдѣ была вытяжка изъ желтка, ни малѣйшаго измѣненія фибрина не обнаружилось. Тогда были предѣланы опыты съ кипяченымъ и некипяченымъ воднымъ растворомъ глицериновой вытяжки изъ того же бѣлка: взято опять по 2 к. с. сказанной глицериновой вытяжки изъ бѣлка и разбавлено вновь водою до 15 к. с. Растворы эти имѣли почти нейтральную или крайне слабую щелочную реакцію. Одна порція такого раствора, содержавшаго 2 к. с. глицериновой вытяжки изъ бѣлка, была прокипчена, другая — нѣтъ и въ каждую положено, приблизительно, по равному количеству хо-

рошо промытаго фибрина. Все поставлено на ночь при $t^{\circ} 35 - 40^{\circ} \text{C}$. Черезъ 12 часовъ въ порціи, содержавшей некипяченную глицериновую вытяжку изъ бѣлка — полное раствореніе фибрина и въ жидкости замѣчалась только мельчайшая пылъ. Въ порціи же, гдѣ былъ кипяченный растворъ глицериновой вытяжки изъ бѣлка, не замѣчалось ни малѣйшаго измѣненія фибрина. Растворъ, полученный въ первой колбѣ (содержавшей некипяченную глицериновую вытяжку изъ бѣлка), былъ отфильтрованъ отъ сказанной фибриной пыли и съ нимъ предѣлана буревова реакція, которая показала присутствіе значительнаго количества пептона. Но такъ какъ пептоны могли уже находиться и въ самой глицериновой вытяжкѣ изъ бѣлка, то была сдѣлана контрольная проба, изъ которой оказалось, что 2 к. с. глицериновой вытяжки изъ бѣлка, разбавленная водою до 15 к. с., сами по себѣ (безъ продуктоу перевариванія) даютъ синее или чуть фиолетовое окрашиваніе при производствѣ буревова реакціи; такое же окрашиваніе получило и въ той пробѣ, въ которой находились фибринъ и прокипяченная вытяжка изъ бѣлка, между тѣмъ, какъ въ той пробѣ, въ которой находилась некипяченная вытяжка и которая имѣла переварилъ фибринъ, окрашиваніе получило чисто розовое.

Такимъ образомъ, въ порціи, содержавшей некипяченную глицериновую вытяжку изъ бѣлка и переварившей положенный въ нее фибринъ, мы имѣли развитіе пептона. Что же касаетъ выше сказанной пыли, оставшейся послѣ исчезновенія фибрина, то она оказалась глобулиннаго характера: она растворялась въ слабыхъ растворахъ NaCl; полученные растворы (солевые) осаждались: MgSO₄, прибавленной въ сухомъ видѣ до насыщенія жидкости, разбавленіемъ водою и пропусканіемъ CO₂ и наконецъ нагреваніемъ.

§ 4. Однако очевидно, что изъ вышесказанной глицериновой вытяжки изъ бѣлка, надо было получить, для полной убѣдительности, содержавшейся въ ней, растворимый ферментъ въ чистомъ видѣ, свободномъ, по мѣрѣ возможности, отъ бѣлковъ и затѣмъ предѣлать опытъ перевариванія въ условіяхъ антисептики, чтобы обезопасить себя какъ отъ тѣхъ бактерий, которыя бы могли находиться въ водномъ растворѣ сказаннаго неорганизованнаго фермента, такъ равно и отъ тѣхъ, которыя бы могли послѣ пошастъ въ пищеварительную жидкость. Чтобы избѣжать при своихъ пищеварительныхъ

опытах влияния бактерий, я пользовался 2-мя антисептическими средствами: салициловой кислотой и солянокислым хиномом. Конечно я употреблял эти вещества в такой концентрации, которая не уничтожала бы действия химического фермента, а между тем, была бы достаточно, чтобы предотвратить развитие бактерий и убить, уже находящиеся в жидкости, по крайней мере, взрослые особи, если не споры. Конечно, всякий раз после окончания опыта производилось микроскопическое исследование пищеварительной жидкости, чтобы убедиться в действительности предпринятых противобактерийных мер.

Руководствуясь с одной стороны известными данными De la Croix, Miquel'a и Koch'a¹⁾, а с другой — теми результатами, которые я получал при определении действия антисептических средств на неорганизованные ферменты вообще, я употреблял салициловую кислоту в таком количестве, чтобы содержание ее в пищеварительной жидкости = 1:800 и даже 1:600, а хиинин = 1:400 и даже 1:200. И оказалось, что и в присутствии вышесказанных антисептиков переваривание фибрина глицериновой вытяжкой из белка происходило. Однако нужно сказать, что 1:600 салициловой кислоты и 1:200 хиинина уже несколько замедляло растворение фибрина, так что при употреблении последнего средства появлялась очень резко выраженная мутность пищеварительной жидкости в виде хлопьев глобулинового характера. Микроскопическое исследование не обнаружало в жидкости, после окончания опыта, ни малейших признаков бактерий, так что можно было сказать, что растворение фибрина произвел химической, неорганизованный фермент.

По фермента этого в свежем белке куриного яйца, как то показали следующие опыты, не содержится. А именно: белок свежего куриного яйца был прямо опущен в абсолютный алкоголь и оставлен 2 недели под спиртом. Осадок отфильтрован, высушен in vacuo, растер в порошок и в течение нескольких дней оставлен стоять с безводным глициномом. Затем взято 2 к. с. отфильтрованной глицериновой вытяжки, разбавлено водою до 15 к. с., туда прибавлен кусок фибрина (сыраго) и затем все поставлено в термостат, на ночь, при $t^{\circ}35-40^{\circ}\text{C}$. На другой день — и малейшего изме-

¹⁾ Flügge, die Mikroorganismen. 1. c.

нения фибрина. Очевидно, стало быть, *растворяющий фибрин ферментъ появился в белкъ куриного яйца, когда этот белкъ началъ разлагаться* (причем дѣло еще до гниения не дошло) вследствие действия на него воздуха или, лучше сказать, заключающихся в воздухѣ бактерий.

Теперь спрашивается, какого же характера был этот, растворяющий белок, неорганизованный ферментъ, появившийся в белке куриного яйца при указанных условиях. То есть, имѣлъ ли онъ характеръ пепсина или трипсина? Для разрешения этого вопроса былъ предѣланъ опытъ перевариванія при прибавленіи 0,2% HCl и 1/3% соды, и оказалось, что в присутствіи 0,2% HCl перевариванія фибрина не происходило, а прибавленіе соды в количествѣ 1/3% нисколько перевариванію не вредило, а скорѣе помогало. Следовательно, в виду этихъ фактовъ, да и самого вида перевариванія фибрина, который при этомъ, какъ сказано, распадался в мелкую пыль глобулиннаго характера, надо признать, что ферментъ имѣлъ характеръ трипсина, а не пепсина.

§ 5. Однако, нужно было еще выдѣлать этотъ ферментъ изъ глицериноваго раствора в болѣе чистомъ видѣ, свободномъ отъ белковъ и съ этимъ чистымъ ферментомъ вновь предѣлать тѣ же опыты.

Для полученія фермента в чистомъ видѣ, вышесказанная глицериновая вытяжка изъ измененнаго белка была осаждена избыткомъ абсолютнаго алкоголя и оставлена стоять 2 недѣли подъ этимъ алкоголемъ, чтобы перевести белковыя вещества въ нерастворимое состояніе, какъ это дѣлалъ Al. Schmidt при добываніи своего фермента, свертывающаго кровь. После этого, осадокъ былъ отфильтрованъ отъ спирта, высушенъ in vacuo надъ сѣрной пластой и извлеченъ холодною водою. Съ полученной водной вытяжкой, которая должна была содержать растворъ искомаго фермента и которая была настолько свободна отъ белковъ, что присутствія ихъ нельзя было доказать никакими известными реакціями, я что даже сузена не производила въ этомъ растворѣ замѣтнаго помутнѣнія, я предѣлалъ следующие опыты: взято 4 порціи полученной водной вытяжки, по 15 к. с. каждая и въ 1-ю) положено значительное количество хорошо промытаго водою, сыраго фибрина изъ собачьей крови; 2) во вторую порцію, *предварительно прокипяченную*, положенъ небольшой клочекъ такого же фибрина, а къ 3-й и къ 4-й порціямъ прибавленъ водный растворъ салициловой кислоты

въ такомъ количествѣ, что въ 3-й порціи содержаніе салициловой кислоты было 1:800, а въ четвертой 1:600 и затѣмъ въ эти объ послѣднія порціи положено по ровному изрядному количеству промываго фибрина. Затѣмъ все оставлено стоять въ термостатъ при $t^{\circ}35-40^{\circ} C.$ на ночь. На другой день, черезъ 12 часовъ, во всѣхъ порціяхъ, кромѣ 2-й, гдѣ находилась прокипяченная водная вытяжка, произошло полное перевариваніе фибрина, отъ котораго оставалась мельчайшая пыль. Салициловая кислота въ количествѣ 1:800 не вліяла задерживающимъ образомъ на перевариваніе, но 1:600 салициловой кислоты нѣсколько замедляла перевариваніе: фибринъ превратился отчасти въ столь же мелкую пыль, какъ и въ первой колбѣ (безъ прибавки салициловой кислоты), а отчасти въ хлопья болѣе значительныхъ размѣровъ. Количества положеннаго фибрина во всѣ колбы, кромѣ 2-й, были очень значительны, такъ что переваривающую способность фермента надо назвать болѣею.

Послѣ этого были продѣланы слѣдующія реакціи: на пептоны (буретовая) въ отфильтрованной, получившейся послѣ перевариванія, жидкости,—и во всѣхъ порціяхъ, кромѣ той, гдѣ находилась прокипяченная водная вытяжка фермента и которая не растворила фибрина, найдено присутствие значительнаго количества пептона, судя по получившейся окраскѣ. Затѣмъ испытана, оставшаяся послѣ перевариванія фибрина, пыль и она оказалась глобуллинаго характера. Сдѣланное микроскопическое изслѣдованіе не обнаружило въ жидкости, послѣ окончанія перевариванія, присутствія бактерий. Растворъ, полученный вытягиваніемъ водою осадка, пролежавшаго 2 недѣли подъ спиртомъ, имѣлъ нейтральную реакцію. Прибавленіе къ этому раствору соды, въ количествѣ до $1/3\%$ перевариванію нисколько не вредило. Слѣдовательно, мы имѣли дѣло съ ферментомъ трипсинообразнымъ. Я полагаю, что опыты эти достаточно убѣждаютъ, что: *въ начальной стадіи разложенія бѣлка (изъ куриного яйца), измѣненнаго ослѣдствіемъ дѣйствія на него воздуха, развивается въ этомъ бѣлкѣ трипсинообразный ферментъ, производящій перевариваніе фибрина и безъ содѣйствія бактерий* (въ условіяхъ антисептики) и будучи выдѣленъ въ совершенно чистомъ видѣ, совершенно свободнымъ отъ бѣлка.

§ 6. Спрашивается теперь, что же, собственно, произвело такое измѣненіе бѣлка и желтка куриного яйца, вслѣдствіе котораго въ бѣлкѣ появился триптической, а въ желткѣ—ди-

статической ферментъ? Произвелъ ли такое измѣненіе воздуха, т. е. его кислородъ, какъ таковой, или же это измѣненіе произвели, находящіися въ воздухѣ, бактерии? Wortmann ¹⁾ высказываетъ за то, что бактерий, при содѣйствіи кислорода, производить диастатической ферментъ; мои опыты, къ которымъ я теперь перехожу, тоже говорятъ въ пользу того, что, безъ бактерий, одинъ кислородъ воздуха не можетъ превратить въ состояние дѣятельнаго фермента бѣлковыя вещества, лишеныя ферментныхъ свойствъ. А именно оказалось, что если свѣжее куриное яйцо, *исраббитое*, значить, снабженное скорлупой, высиживать при $t^{\circ} 35-40^{\circ} C.$, то даже и на 10 день, ни въ бѣлкѣ, ни въ желткѣ, нельзя констатировать никакихъ ферментныхъ свойствъ, при посредствѣ той процедуры, которая выше была описана.

§ 7. Здѣсь я долженъ замѣтить, что, по изслѣдованіямъ Krukenberg'a ²⁾, въ свѣжемъ желткѣ куриного яйца содержится пептической ферментъ, дѣйствующій только въ кислой средѣ. Диастатическаго же и триптическаго ферментовъ въ такомъ желткѣ не имѣется. Дѣйствительно, и я не нашелъ въ свѣжемъ желткѣ диастатическаго фермента, что же касается до заключающагося въ такомъ желткѣ пептическаго фермента, то даже и по Krukenberg'у, ферментъ этотъ очень слабый. А если держаться той процедуры, которую приимѣлъ я, т. е. осажденіе желтка абсолютнымъ спиртомъ, подъ которымъ желтокъ сохранялся затѣмъ продолжительное время, то пѣзъ обработаннаго такимъ образомъ и высушеннаго влослѣдствіи in vacuo желтка нельзя глицериномъ извлечь никакого пептическаго фермента, какъ это признаетъ и Krukenberg, который поэтому извлекалъ прямо (безъ предварительной обработки алкоголемъ) ферментъ пѣзъ желтка при посредствѣ глицерина и получалъ при этомъ крайне мутные, нечистые растворы, но дѣйствовашіе немного сильнѣе. Поэтому Krukenbergъ говоритъ: «es lassen sich aus dem mit Alkohol und Aether behandelten Dotter durch Extraction mit Glycerin oder 0,2% HCl klare Lösungen leicht gewinnen, doch sind sie sehr wenig wirksam».

§ 8. То обстоятельство, почему въ моихъ опытахъ измѣнившійся куриный бѣлокъ заключалъ трипсинообразный ферментъ и не заключалъ диастатическаго, а измѣнившійся куриный

¹⁾ Ueber das Diastatische Ferment der Bacterien. Zeit.f. Phys. Chem. Bd.VI.
²⁾ Ueber ein pепtisches Enzym im Eidotter vom Huhne. Unters. aus d. Phys. Institute d. Univ. Heidelberg, 1882, Bd. 2, S. 273.

желтокъ, наоборотъ, заключають диастатическій и не заключають триптического фермента, объясняется просто тѣмъ, что *химическая натура* бѣлковыхъ тѣлъ, заключающихся въ бѣлкѣ и желткѣ куриного яйца, различна и потому при дѣйствіи воздуха (и бактерий) они измѣняются неодинаковымъ образомъ и въ результатъ даютъ неодинаково дѣйствующіе ферменты. Я не отвергаю, впрочемъ, возможности, что въ яичный бѣлокъ можетъ въ извѣстныхъ условияхъ, образоваться диастатическій ферментъ. Для того, чтобы рѣшить этотъ вопросъ, слѣдуетъ посмотреть, какъ будутъ измѣняться, въ смыслѣ образованія изъ нихъ различныхъ ферментовъ, подъ вліяніемъ стоянія на воздухѣ, разные виды бѣлковыхъ веществъ, какъ то: яичный альбуминъ, поразглобулинъ, вителлинъ, свороточный альбуминъ, фибринъ и т. д. Слѣд., на основаніи своихъ опытовъ я, какъ мнѣ кажется, могу сдѣлать слѣдующій выводъ: *триптическій ферментъ есть производъ бѣловыхъ веществъ и можетъ быть полученъ при распаденіи этихъ веществъ, не доходящемъ до гніенія.*

§ 9. Такому выводу, по моему, не противурѣчатъ опыты Кюне ¹⁾, въ которыхъ онъ доказываетъ, что при гніеніи фибрина съ весьма малою частію панкреатич. железы, происходившемъ при t° 35—40° С., на посредствомъ глицерина, ни водою нельзя было извлечь никакого химическаго фермента, дѣйствующаго на подобіе трипсина. Дѣйствительно, у меня триптическій ферментъ является продуктомъ начинающагося разложенія бѣловыхъ веществъ, не доходящаго до гніенія, между тѣмъ, какъ у Кюне дѣло уже перешло въ ясное гніеніе. Что же касается вопроса: не можетъ-ли и одинъ кислородъ воздуха, въ извѣстныхъ условияхъ, и безъ бактерий произвести такіа измѣненія бѣловыхъ веществъ, вследствие которыхъ эти бѣловыя вещества переходятъ въ состояніе дѣятельныхъ химическихъ ферментовъ (зизимъ), то покада на него нельзя отвѣчать ни положительно, ни отрицательно. Укажемъ только на то обстоятельство, что Марсано ²⁾ нашель въ проростающихъ масловыхъ зернахъ микроорганизмы, производящія диастатическій ферментъ, очевидно происшедшія на счетъ бѣловыхъ веществъ зерна, разложившихся подъ вліяніемъ жизнедѣятельности этого микроба. Кроме того, Марсано нашель, что микробъ, находившійся, въ непроросшихъ зернахъ, въ наружной оболочкѣ,

¹⁾ Jahresberichte d. Thierchemie VIII S. 357. Ueber Enzyme und Fermente.

²⁾ Marcano I. c.

при проростаніи проникаль внутрь зерна (что не трудно себѣ представить, въ виду тѣхъ разрывовъ, которые появляются на наружной оболочкѣ зеренъ при ихъ проростаніи ¹⁾). И я нашель тоже бактерий въ осадкѣ, образовавшемъ алкогольъ въ глицериновой вытяжкѣ изъ проросшихъ зеренъ. Въ виду этого, а также факта, констатированнаго Вагнетзку ²⁾, что разворненіе крахмальныхъ зеренъ, при проростаніи съимъни, всегда происходитъ раньше на вѣншей поверхности сѣмени, прилегающей къ наружному воздуху, я полагаю не будетъ очень смѣлымъ и въ проростающихъ зернахъ, изслѣдованныхъ мною, поставить въ зависимость отъ найденныхъ бактерий происхожденіе пептонизирующаго бѣлока фермента, констатированнаго въ этихъ зернахъ, причеъ сказанныя бактеріи должны превращать бѣлков. вещества зерна въ состояніе фермента.

III. Изложеніе опытовъ, сдѣланныхъ съ цѣлью опредѣлить дѣйствіе нѣкоторыхъ антисептическихъ средствъ на пищеварительные (неорганизованные) ферменты.

§ 1. Уже изъ предъидущаго было видно, что бактеріи могутъ нерѣдко имитировать дѣйствіе неорганизованныхъ ферментовъ, такъ какъ, по крайней мѣрѣ, въ начальномъ періодѣ своей дѣятельности, онѣ могутъ воспроизводить тѣ же самыя гидролитическія разложенія органическихъ веществъ, что и зизимы. Вспомнимъ, напр., въ дополненіе ко всему вышесказанному, что тѣ же глобулины, которые получаютъ напр. изъ фибрина при панкреатическомъ перевариваніи, какъ первый продуктъ дѣйствія на него трипсина, получаютъ также и при гніеніи фибрина, какъ первый продуктъ дѣйствія бактерий. По этому сознанію о необходимости производить всѣ пищеварительные опыты съ неорганизованными ферментами въ условияхъ антисептики все болѣе и болѣе находятъ себѣ мѣста у современныхъ изслѣдователей въ этой области и въ настоящее время большинство изслѣдователей, не желающихъ впасть въ какую нибудь грубую ошибку, примѣняютъ, при своихъ опытахъ по перевариванію, тотъ или другой методъ антисептики. Укажемъ

¹⁾ Хотя Laurent Jahresberichte d. Thierchem. XVI, (48) и говоритъ, что внутри растительныхъ тканей нѣтъ микроорганизмовъ, но это относится къ цѣльнымъ, напр. зернамъ, при проростаніи же бактеріи могутъ легко проникнуть внутрь сѣмени.

²⁾ Die Stärkeumbildenden Fermente in den Pflanzen, 1878.

для примѣра хоть на недавно появившуюся работу Harris'a и Tooth'a ¹⁾, которые производили опыты какъ пепсиноваго, такъ и панкреатическаго пищеваренія въ условіяхъ антисептики. Въ особенности, конечно, важно примѣнять антисептическія предосторожности, производя опыты перевариванія въ нейтральныхъ или щелочныхъ средахъ, а также и слабнокислыхъ, но гдѣ присутствующая кислота есть слабая органическая, такъ какъ тамъ, гдѣ, какъ напр., при пепсиновомъ пищевареніи, мы имѣемъ дѣло съ кислотой минеральной, которая въ разведеніи 1 : 500 и даже меньше, по изслѣдованіямъ Koch'a, Miquel'a и др. ²⁾, вполне препятствуетъ развитію бактерий и убиваетъ уже развитые экземпляры, мы другого антисептика можемъ и не употреблять. Примѣняли антисептическія средства съ цѣлью узнать: обуславливается-ли данное измѣненіе пищевыхъ веществъ химическими энзимами или микроорганизмами, уже давно. Укажемъ, кромѣ известной работы Kühne съ панкреатической железой, еще на работу Н. Mayer'a, цитированную выше ³⁾, а также и на цитир. выше работу Н. Васильева.

§ 2. Дѣйствительно, безъ этой предосторожности, можно нѣрѣдко придти къ совершенно ложнымъ выводамъ, какъ это на примѣрѣ сдѣлалъ В. П. Михайловъ, доказывающій, что диастазъ солода способенъ дѣйствовать не только на крахмалъ, превращая его въ сахаръ, но и на бѣлки (яичный альбуминъ), которые онъ переводитъ, будто-бы, въ глобулинъ (диссерт. В. П. Михайлова „О студенистомъ состояніи бѣлковыхъ веществъ“, стр. 149). Гг. Михайловъ и Кравковъ, дѣйствуя на четверго разведенную яичную бѣлковину растворами диастаза, добытаго изъ солода, послѣ *суточнаго* (!) стоянія при t° 30—35°, получали вещества глобулиннаго характера, Я. съ своей стороны, продолжалъ сѣдующій опытъ, на основаніи котораго могу, мнѣ кажется, придти къ заключенію, что гг. Михайловъ и Кравковъ имѣли дѣло не съ дѣйствиемъ фермента неорганизованнаго (диастаза) на бѣлки, а съ проявленіемъ жизнѣдѣятельности микроорганизмовъ. Именно я приготовилъ глицериновую вытяжку изъ продажнаго ячменнаго солода и вытяжку эту осадила избыткомъ абсолютнаго алкоголя. Затѣмъ я обработала часть

этого алкогольнаго осадка на фильтрѣ водою и прибавилъ по 10 к. с. этого воднаго раствора къ 2 порціямъ, приблизительно равнымъ, сыраго фибрина. Но одна порція воднаго раствора фермента была прокипячена, другая—нѣтъ. Все поставлено на ночь при t° 35—40° С. На другой день та часть фибрина, куда была прибавленъ некипяченный водный растворъ моего фермента, оказалась растворенною, отчасти же превращенною въ мелкую пыль, оказавшуюся глобулиннаго характера. Но вмѣстѣ съ этимъ, въ жидкости было найдено громадное количество бактерий. Въ другой же порціи съ прокипяченнымъ растворомъ фермента никакого растворенія фибрина не оказалось и вмѣстѣ съ этимъ, конечно, не оказалось и бактерий. Прибавленіе къ переваривающей жидкости салициловой кислоты даже въ количествѣ 1 : 1,200 (а такое количество салициловой кислоты не прекращало еще сахарифицирующаго дѣйствія этого раствора диастаза на крахмалъ, какъ и въ томъ убѣждался) тоже препятствовало развитію бактерий и прекращало раствореніе (распыленіе) фибрина и образованіе глобулиновъ. Слѣд. выводъ г. Михайлова, что, будто бы, диастазъ можетъ измѣнять бѣлки до стадіи глобулиновъ, мнѣ кажется весьма мало вѣроятнымъ и я удивляюсь, почему г. Михайловъ не повторилъ своихъ опытовъ въ условіяхъ антисептики, напр. употребляя карболовую, салициловую кислоты и т. д. Ибо напр., по моимъ нижеприводимымъ опытамъ, карболовая кислота прекращаетъ дѣйствіе диастаза на крахмалъ только при 3,75% содержаніи ея. Гг. Михайловъ и Кравковъ могли тѣмъ смѣлѣе употреблять эти кислоты въ качествѣ антисептиковъ при своихъ опытахъ, такъ какъ они нашли, что бѣлокъ предохраняетъ диастазъ отъ разрушительнаго на него дѣйствія кислотъ ¹⁾. Слѣд. имъ нужно было, если ужъ они болѣе разрушилъ диастазъ прибавленіемъ салициловой кислоты въ дозахъ достаточныхъ для убіенія бактерий (т. е. около 1 : 800—1 : 1,000), кислоте эту прибавлять прежде къ яичной бѣлковинѣ; а затѣмъ уже туда прибавлять растворъ диастаза (вѣдъ г. Кравковъ самъ же доказалъ важность *порядка* прибавленія кислоты и бѣлка въ опытахъ съ диастазомъ ²⁾. А для карболовой кислоты они могли и этого

¹⁾ On the relations of microorganisms to pancreatic (proteolytic) digestion. Journ. of Phys. IX, p. 213.

²⁾ Flögge, die Mikroorganismen, 1886.

³⁾ Ueber das Milchsäureferment und sein Verhalten gegen Antiseptica, 1880.

¹⁾ Что, впрочемъ, уже гораздо раньше (въ 1883 г.) найдено Chittenden'омъ и Cummins'омъ (см. Jahresbericht d. Thierchemie. Bd. XV).

²⁾ Статья г. Кравкова, въ Ж. Р. Х. О. 1887, (1) 387 «О неогранич. ферментахъ».

не дѣлать, ибо, какъ сказано, карболовая кислота разрушаетъ диастазъ только при очень значительныхъ концентраціяхъ ея. Наконецъ, они имѣли въ своемъ распоряженіи цѣлый арсеналъ другихъ антисептическихъ средствъ, не дѣйствующихъ вредно на диастазъ, напр. хоть хинина. Впрочемъ мнѣніе, что одинъ и тотъ же ферментъ можетъ оказывать и диастатическое дѣйствие на крахмалъ, превращая его въ сахаръ и пептическое на бѣлки—не ново: когда Gouip-Besanez¹⁾ нашелъ въ проростающихъ сѣменахъ нѣкоторыхъ растений пептической ферментъ, то онъ высказалъ мнѣніе, что это—тотъ самый диастатическій ферментъ, который появляется въ проростающихъ сѣменахъ и который превращаетъ крахмалъ въ сахаръ. Но очевидно, что Gouip-Besanez имѣлъ дѣло не съ однимъ, а съ 2 ферментами, которые только не были имъ отдѣлены другъ отъ друга. Ибо вся масса извѣстныхъ фактовъ по этому предмету приводитъ къ убѣжденію, что всякій неорганизованный ферментъ можетъ оказывать дѣйствие только на одну категорію органическихъ веществъ. Да, кромѣ того, у меня имѣются опыты, говорящіе тоже въ пользу существованія здѣсь 2 ферментовъ. А именно, я нашелъ, что 1—2% растворы хинина, которые, какъ увидимъ, на превращеніе диастазомъ крахмала въ сахаръ, не оказываютъ вреднаго вліянія, препятствующаго растворяющему блоку дѣйствію фермента, добытаго изъ проросшихъ зеренъ. Наоборотъ, салициловая кислота, очень вредно дѣйствующая (даже въ разведеніи 1:1,000) на сахарифицирующую способность диастаза солода, въ этомъ разведеніи (и даже болѣе крѣпкомъ 1:800—1:600 см. выше) перевариванію фибрина ферментомъ, добытымъ изъ проросшихъ зеренъ, не мѣшаетъ.

§ 3. Какъ бы то ни было, изъ всего вышесказаннаго уже видно, что не только при лабораторныхъ, такъ сказать, опытахъ, но даже и въ живомъ организмѣ роль бактерий въ дѣлѣ перевариванія бѣлковъ и другихъ пищевыхъ веществъ можетъ быть громадна. Дѣйствительно, если тѣ продукты, которые появляются въ первой стадіи дѣйствія микроорганизмовъ на пищевыя вещества, и которые представляютъ собою еще только результатъ гидратации сложныхъ органическихъ веществъ, какъ предшествующую ступень къ процессу собственно гниенія, будутъ восприняты раньше, чѣмъ бактеріи успѣютъ ихъ разложить на такія простыя вещества, которыя въ дѣлѣ пи-

¹⁾ l. c.

танія уже не могутъ быть полезными, то, очевидно, организмъ получитъ въ такомъ случаѣ вполне пригодный для него пищеварительный продуктъ¹⁾. Какъ извѣстно также, организмъ избѣгаетъ разныя приспособленія для того, чтобы умѣрить дѣйствие (измѣняющее пищевыя вещества) сказанныхъ гнилостныхъ бактерій и изъ этихъ приспособленій одно изъ главнѣйшихъ есть, бесспорно, антисептическое дѣйствие желчи. Но въ извѣстныхъ условіяхъ, т. е. при быстромъ всасываніи первыхъ гидродитическихъ продуктовъ дѣйствія бактерій на пищевыя вещества, функция этихъ микроорганизмовъ очень полезна и извѣстны случаи, когда при полной невозможности поступленія въ кишечникъ какихъ бы то ни было пищеварительныхъ соковъ и заключающихся въ нихъ неорганизованныхъ ферментовъ, тѣмъ не менѣе, введенныя пищевыя вещества, по крайней мѣрѣ бѣлокъ и крахмалъ, отлично переваривались и, переходя въ пептоны и сахаръ, всасывались. Сюда относится случай фистулы кишечника, наблюдавшагося Бушемъ, а также и извѣстные опыты Вилдера и Шмидта со введеніемъ въ кишечникъ конки, изолированной отъ притока пищеварительныхъ соковъ, пищевыхъ веществъ²⁾. На то обстоятельство, что микроорганизмы могутъ своею жизнедѣятельностью помогать неорганизованнымъ ферментамъ въ дѣлѣ пищеваренія, указываютъ также опыты Д-ра Рачинскаго, который, работая въ 1888 году подъ руководствомъ проф. Баталіана, нашелъ въ желудкѣ собаки, кормимой мясомъ, 3 рода бактерій, разлагающихъ желатину и пептонизирующихъ бѣлокъ³⁾. Также и W. Miller (Ueber Gährungsvorgänge im Verdauungstracte und die dabei theilhabenden Spaltpilze). Jahresbericht d. Tierchemie XV, S. (509) нашелъ въ пищеварительномъ трактѣ много микроорганизмовъ, изъ которыхъ нѣкоторые дѣйствовали диастатически, а другіе—пептонизирующимъ на бѣлки образомъ. Конечно, какъ справедливо замѣчаетъ Nencki, возражая противъ Pasteur'a, въ вполне нормальныхъ условіяхъ организмъ можетъ обойтись и безъ вспомогательнаго дѣйствія бактерій, будучи снабженъ въ достаточной степени неорганизованными, химическими ферментами (энзимами).

¹⁾ Руководство къ физиологіи Германа, Химія пищеваренія проф. Р. Мале.

²⁾ Руководство къ физиологіи Германа, Химія пищеваренія проф. Р. Мале, стр. 318.

³⁾ Пептонизирующая бѣлокъ бактерія въ желудкѣ собаки.

§ 4. Очевидно, стало быть, что желая, при помощи антисептических средств, разъединить явления, обусловливаемые неорганизованными и организованными ферментами, надо было знать, как действуют эти антисептические средства на неорганизованные ферменты и, конечно, прежде всего нужно было определить те высшие дозы их, которые уже вполне прекращают действие сказанных ферментов. Между тем, имевшаяся в литературе данная часто не вполне верна в количественном, по крайней мере, отношении и даже противурчать друг другу. Так напр., согласно Jul. Müller'у ¹⁾, салциловая кислота в пропорции 1:250 уничтожает пепсиновое пищеварение вполне, а по Kühne ²⁾, эта же кислота, прибавленная к пепсину в избыток, до образования кристаллической кашицы, пепсину не вредит и переваривающего его действия не нарушает. Къ сожалѣнію, за недостаткомъ времени, я могъ изслѣдовать въ этомъ направленіи сравнительно немного антисептическихъ средствъ и то только по отношению къ двумъ неорганизованнымъ ферментамъ, а именно, по отношению къ диастазу солода и пепсину.

§ 5. Опыты были прежде всего начаты съ диастазомъ. Диастазъ былъ приготовленъ по способу, близкому къ тому, который применялъ Рауен ³⁾, а именно: было взято 1½ фунта продажнаго пшеничнаго мелкосолодата солода и настоено съ дистиллированной водой, при t° 35—37° С. Настой отфильтрованъ, къ фильтрату прилить очищенный 95° спиртъ въ избытокъ и осадокъ выпавшихъ бѣловыхъ веществъ—ферментъ оставленъ стоять въ теченіи нѣсколькихъ дней подъ спиртомъ. Затѣмъ этотъ осадокъ обработанъ дистиллированной водой и фильтратъ вновь осажденъ абсолютнымъ спиртомъ, въ избытокъ прибавленнымъ. Осадокъ оставленъ на 2 недѣли подъ спиртомъ, затѣмъ отфильтрованъ и высушенъ in Vacuo надъ серной кислотой. Получилось около 0,060 грм. сухаго порошка бѣлаго цвѣта и обладавшаго сильнымъ сахарифицирующимъ действиемъ, а именно: 1 часть полученнаго порошка, будучи растворена въ водѣ, причемъ растворъ получился совершенно прозрачный, а затѣмъ прибавлена къ 500 частямъ во всеу пшеничнаго (я для всѣхъ своихъ опытовъ съ диастазомъ бралъ

пшеничный крахмалъ) крахмала, свареннаго въ 50—100 разъ большею, по всеу количеству дистиллированной воды, т. е. къ 1—2% крахмальному клейстеру, моментально (1—2 минуты) просвѣтляла этотъ клейстеръ, разжижала его и Громмеровская проба показывала обильное развитіе въ жидкости сахара. Поставленная же въ термостатъ или баню (я при своихъ опытахъ пользовался масляной баней въ видѣ лиска съ двойными стѣнками, въ которомъ t° поддерживалась всегда очень точно на желаемой высотѣ) при t° 60° С. эта смѣсь крахмала и диастаза измѣнялась такимъ образомъ, что растворъ іода въ иодистомъ калиѣ давала сначала въ теченіи нѣсколькихъ минутъ все еще сильное окрашиваніе (растворимый крахмалъ или амидулинъ Nasse былъ еще въ избыткѣ). Затѣмъ окрашиваніе отъ іода получалось фиолетовое — смѣсь эритродекстрина Брюкке и растворимаго крахмала; затѣмъ отъ іода получалось красное окрашиваніе — эритродекстринъ и затѣмъ, приблизительно черезъ 4 часа, исчезала всякая реакція съ іодомъ и развѣ на днѣ сосуда оставался небольшой осѣдокъ, чуть замѣтно иногда окрашивающійся еще отъ іода въ розовый цвѣтъ, вся же жидкость дѣлалась совершенно прозрачной, какъ вода, и показывала обильное развитіе въ ней сахара. Сахаръ опредѣлялся количественно титрованіемъ Фелинговой жидкости, титръ которой былъ поставленъ по виноградному сахару, химически чистому и лишенному высушиваніемъ при 70° кристаллизационной воды. Такое опредѣленіе сахара, произведенное тогда, когда весь крахмалъ измѣнился на столько, что прибавленіе іода къ жидкости не давало уже болѣе никакого окрашиванія, показало, что, судя по количеству возстановленной окиси мѣди, ½ крахмала перешла въ сахаръ, вычисленный какъ виноградный, хотя здѣсь, конечно, образовалась мальтоза, а 1/3 — въ декстринъ, неокрашивающійся отъ іода, т. е. ахроодекстринъ Брюкке, т. е. реакція проходила по слѣдующей формулѣ: $2C_6H_{10}O_5 + H_2O = C_6H_{10}O_6 + C_6H_{12}O_6$. Но если приять во вниманіе, что редуцирующая способность мальтозы относится къ редуцирующей способности винограднаго сахара какъ 66:100, то количество мальтозы составило около 75% взятаго крахмала, что согласно съ данными O'Sullivan'a ¹⁾. При этомъ я долженъ замѣтить, что въ болѣе раннихъ стадіяхъ действия диастаза на крахмалъ, когда въ жидкости еще содержался смѣсь мальтозы, амидулинъ

¹⁾ Jahresbericht d. Thierchemie V, S. 286, 1875.

²⁾ Руковод. къ физиологіи Германиа, отд. проф. Р. Мали.

³⁾ Précis de Chimie Industrielle T. II, p. 424.

¹⁾ O'Sullivan, Journal of the Chem. Society, 1876, Цитир. по Baranetzky.

на и эритродекстрина, я, посредством осторожного прибавления йодового раствора, могъ убедиться, что съ йодомъ раньше соединяется эритродекстринъ (получается красное окрашивание), а затѣмъ уже цвѣтъ переходитъ въ синий (отъ непревращеннаго еще крахмала), что вполне согласно съ показаніями Грисмайера, въ противоположность тому, что говоритъ Брюкке, по которому раньше всего съ йодомъ соединяется амидалинъ, а затѣмъ эритродекстринъ.

§ 6. Затѣмъ перехожу къ опытамъ съ антисептическими средствами. Но прежде я долженъ сказать, что мой диастазъ почти не давалъ указаний на присутствіе въ немъ бѣлковъ: капто-протеиновый реакціи получалась крайне неясной, равно какъ и буревогал. Уксуснокислый свинецъ, средней и основной, осадка не давалъ; но отъ сулемы все еще получалось слабое помутнѣніе.

Опытъ съ карболовой кислотой. Взятъ 6 колбъ и въ каждую изъ нихъ налитъ по равному числу куб. сантиметровъ 1% крахмального клейстера, хорошо прокипяченнаго и затѣмъ къ каждой пробѣ прибавлено разное количество куб. сантиметровъ воднаго раствора карболовой кислоты. Карболовая кислота бралась для растворенія кристаллическая, химически чистая. Затѣмъ концентрація крахмального клейстера во всѣхъ пробахъ сдѣлана вновь одинаковою тѣмъ, что если въ какую-либо пробу прибавлялось меньше куб. сантим. карболоваго раствора, то взамѣнъ этого добавлялось столько-же куб. сантим. воды. Послѣ этого, во всѣ колбы было прибавлено по одинаковому числу куб. сантим. воднаго раствора диастаза, причемъ диастазъ брался въ пропорціи 1 вѣсовой части на 250 вѣсовыхъ частей крахмала. Кроме того, приготовлена 7 контрольная проба крахмального клейстера и диастаза, но безъ карболовой кислоты. Послѣ всего этого мы имѣли въ колбахъ слѣдующія концентрации карболовой кислоты: 5%, 4%, 3,75%, 3%, 2,5% и 2% и 7-я проба — 0%. Всѣ колбы въ одно время поставлены въ баню при 1° 60° С. Послѣ 4 часовъ стоянія онѣ вынуты и прокипачены для прекращенія дальнѣйшаго дѣйствія диастаза на крахмалъ, за исключеніемъ только первыхъ трехъ колбъ (съ 5%, 4% и 3,75% карболовой кислоты), въ которыхъ не замѣтно было нисколько разжиженія крахмала и потому онѣ вновь поставлены въ баню. Произведенное опредѣленіе сахара дало: въ колбѣ безъ прибавки карболовой кислоты получилось

полное количество сахара, т. е. $\frac{1}{2}$ крахмала перешло въ сахаръ, а $\frac{1}{2}$ — въ ахроодекстринъ, причемъ йодъ не давалъ ни малѣйшаго окрашиванія. Проба съ 3% карболовой кислоты дала сахара въ 30 разъ меньше, тѣмъ контрольная проба (безъ прибавки карболовой кислоты); проба съ 2,5% карболовой кислоты дала сахара въ 10 разъ меньше, тѣмъ контрольная проба и проба съ 2% карболовой кислоты дала сахара въ 2,5 разъ меньше контрольной пробы. Въ 3 же первыхъ пробахъ (съ 5%, 4% и 3,75% карболовой кислоты) и на другой день еще не найдено ни малѣйшихъ слѣдовъ сахара и незамѣтно ни малѣйшаго разжиженія крахмала. Количество сахара, какъ сказано, опредѣлялось титрованіемъ Фелинговой жидкостью, причемъ я долженъ замѣтить, что мною не проводывалась вся сложная процедура, которая приводится въ книгѣ проф. Забѣлина¹⁾, т. е. осажденіе декстрина и непревращеннаго еще крахмала спиртомъ, вывариваніе спиртоваго раствора на водяной банѣ, раствореніе, полученнаго отъ выпариванія, сухаго остатка въ водѣ и уже титрованіе тогда этого раствора Фелинговой жидкостью. Вмѣсто всего этого я прямо титровала жидкостью, полученную, какъ продуктъ дѣйствія диастаза на крахмалъ, не отдѣляя отсюда декстрина и непревращеннаго крахмала, если этотъ послѣдній еще находился въ жидкости. И я думаю, что такъ поступать будетъ вѣрнѣе, ибо, при осажденіи спиртомъ непревращеннаго крахмала и ахроодекстрина, изъ смѣси, вмѣстѣ съ декстриномъ, увлечается и сахаръ, который, повторной, даже обработкой спиртомъ, вполне выдѣленъ быть не можетъ²⁾, черезъ что слѣдовательно происходитъ потеря³⁾. Итакъ, даже 3% растворъ карболовой кислоты не уничтожаетъ вполне дѣятельности диастаза, а между тѣмъ такой растворъ карболовой кислоты, конечно, бактеріи убьетъ.

¹⁾ Журналъ по Фармакологіи, проф. Забѣлина, за 1875, стр. 191.

²⁾ Учебникъ Физиологіи Брюкке въ русскомъ переводѣ, стр. 234.

³⁾ *Примѣчаніе.* Фелингова жидкость готовилась такимъ образомъ: 34,5 гр. мѣднаго купороса растворился въ 200 к. с. воды, затѣмъ въ другой колбѣ растворилось 173 гр. двойной нейтральной виннокислотно-кальциеватривной соли (селитровой) въ 500 к. с. раствора NaHO, причемъ этотъ растворъ NaHO имѣлъ яркость по ареометру — 1,12. Послѣ же сліянія обоихъ растворовъ вмѣстѣ, все добавлялось до литра дистиллированной воды. Растворъ Фелинговой жидкости хранился на холоду и въ темной стеклянкѣ. (Козмаковъ, анализъ мочи, 173.)

Эти мои результаты согласуются с данными других исследователей, напр. Detmer'a¹⁾, который тоже нашел, что даже относительно большая количества карболовой кислоты не уничтожают сахарифицирующей способности диастаза, а именно: при 1 и 1,2% содержания карболовой кислоты количества образовавшегося сахара почти не различались от тех чисел, которые дала контрольная проба (без прибавки карболовой кислоты). Также и на сахарифицирующую деятельность слюны карболовая кислота, по определению напр. Jul. Müller'a²⁾ не влияет в малых количествах и только при 5% ее содержания прекращается действие пталина на крахмал³⁾. Также нашел и Гордхейт, работал у проф. Забьина.

§ 7. *Опыт с иодоформом.* В 4 колбы прибавлено одинаковое количество кубических сантиметров 1% крахмального клейстера и затем в 3 из них насыпан очень мелко песочный порошок иодоформа, в количестве равном 1%, 2% и 5% по всему жидкости. Конечно, порошок иодоформа был только суменирован в жидкости, а не растворен; но отчасти в ней, повидному, и растворился, ибо жидкость, даже отфильтрованная от иодоформа, всегда пахла им. 4-я же проба для контроля без иодоформа. После 6 часового стояния произведенный анализ в пробках с иодоформом почти вдвое (1,64) меньше сахара, чем в пробке без иодоформа.

§ 8. *Опыт с сулемой.* Опыты с сулемой показали, что даже прибавление ее в самых незначительных количествах, даже до 1:200,000, уже вполне уничтожает всякое действие диастаза на крахмал, так что не наступало при этом ни разжижения, ни сахарификация крахмала, даже после сурочного стояния при t° около 60°C. Вызвал я присисывал такое вредное действие сулемы на диастаз тому обстоятельству, что мой раствор диастаза от сулемы несколько мутился, почему я мог думать, что образовавшаяся при этом муть, увлекала из раствора фермент, но впоследствии, приготовив еще в другой раз диастаз, уже настолько чистый, что от сулемы он не давал никакой муты (хотя я должен сказать, что

¹⁾ Ueber den Einfluss d. Reaction Amylum sowie Diastase enthaltenden Flüssigkeiten auf d. Verlauf d. ferment. Processes. Zeit. f. phys. Chemie Bd. VII.

²⁾ Jahresbericht, d. Tierchemie V, S. 285.

³⁾ Платте, цитировано по учеб. Германа, Химия питания Р. Мала.

этот второй диастаз был уже несколько слабее первого, что, по всей вероятности, объясняется многократным его осаждением алкоголем), я и тогда мог убедиться, что сулема, в разведении вышеуказанном, уничтожает его действие на крахмал. Вряд ли такое действие сулемы можно объяснить, присущей ей растворам, кислой реакцией, ибо незначительная степень кислотности превращению крахмала не вредит, а напротив того, даже помогает. А именно Detmer¹⁾ нашел, что малые количества кислот: соляной, фосфорной, молочной (меньше 1:1000 органических кислот), а также и угольной, ускоряют превращение крахмала в сахар. Но Брюкке же 1:2,000 HCl не задерживает сахарифицирующей деятельности слюны, но 1:1,000 прекращает эту деятельность. Впрочем, опыты Chittenden'a и Cummins'a доказывают, что даже 0,001% HCl уже уничтожает действие диастаза. Однако же, даже принимая данные Chittenden'a и Cummins'a (Jahresberichte d. Thierch. XV), доказывающих крайне вредное действие очень малых количеств свободной HCl на диастаз, нельзя было бы одною кислотностью сулемы объяснить ее депримирующее влияние на диастаз.

Сулема в данном случае также не действовала на диастаз просто как тяжелый металл, ибо 1:5,000 среднего уксуснокислого свинца несколько не вредило действию диастаза на крахмал. Поэтому надо считать такое действие сулемы, этого столь сильного агента и против организованных ферментов, в данном случае за специфическое²⁾.

§ 9) *Солонокислый хинин* (средний) был испробован в количествах 1 и 2%, причем ни малейшего замедления или ослабления в превращении крахмала не замечалось, что согласно с данными Binz'a, по которому хинин не мешает действию слюны на крахмал.

§ 10. *Салициловая кислота.* Опыт, сделанный с первым, мною добытым, диастазом, показал, что если салициловая кислота прибавлялась в таком количестве, что

¹⁾ l. c.

²⁾ Впрочем Kjeldahl нашел, что все те соли тяжелых металлов, которые имеют кислую реакцию, действуют очень вредно на ферментную способность диастаза. Таким образом Kjeldahl сводит все объяснение на депримирующее диастатический фермент действие кислоты. Untersuchungen über Zuckerbildende Fermente, Jahresberichte d. Tierchemie IX, S. 381).

содержание ее равнялось 0,3%, то и послѣ сучюжнаго даже стоянія при $4^{\circ}60^{\circ}\text{C}$. никакого разжиженія крахмала и образованія сахара не получалось. Къ сожалѣнію, съ этимъ диастазомъ мнѣ не удалось сдѣлать дальнѣйшихъ опытовъ относительно дѣйствія болѣе слабыхъ растворовъ салициловой кислоты, а потому я принужденъ былъ для опредѣленія дѣйствія такихъ слабѣйшихъ дозъ салициловой кислоты пользоваться вновь приготовленнымъ мною диастазомъ, болѣе слабымъ, чѣмъ былъ первый диастазъ и который получился въ столь незначительномъ количествѣ, что не могъ вовсе быть собранъ въ сухомъ видѣ, почему я экспериментировалъ съ его воднымъ растворомъ неопредѣленной крѣпости. Для опыта взято 10 к. с. этого воднаго раствора диастаза и 10 к. с. 1% раствора крахмального клейстера. Тогда оказалось, что прибавка 5 к. с. воды, содержащей 0,5% по вѣсу салициловой кислоты вполне уничтожила сахарифицирующее дѣйствіе этого диастаза; такъ что и послѣ 12 часовъ стоянія при $4^{\circ}60^{\circ}\text{C}$ не замѣчено никакого разжиженія крахмала, и ни малѣйшаго образованія сахара, между тѣмъ, какъ контрольная проба оказалась вполне разжиженной и содержала много сахара. Такимъ образомъ, если основываться на этомъ опытѣ съ болѣе слабымъ диастазомъ, то окажется, что 0,1% салициловой кислоты прекращаетъ дѣйствіе диастаза на крахмалъ, что совпадаетъ съ данными Kjöldahl'я ¹⁾. Однако, чтобы воспреставствовать дѣйствію слюны на крахмалъ, требуются болѣе значительныя количества салициловой кислоты, какъ это напелъ Jul. Müller ²⁾. Во всякомъ случаѣ, различія между салициловой кислотой и карболовою касательно силы дѣйствія этихъ кислотъ на диастазъ громадна: карболовая кислота дѣйствуетъ гораздо слабѣе салициловой; что, впрочемъ, и не представляетъ ничего удивительнаго, такъ какъ химическая натура обѣихъ этихъ кислотъ очень различна: салициловая кислота есть оксибензойная кислота меорто-ряда, а карболовая — даже и не кислота, а феноль, т. е. одноатомный, ароматическій спиртъ, хотя и способный давать съ основаниями соленодобныя соединения. На основаніи всего вышесказаннаго несомнѣнно, что, призывая въ особенности солянокислый хининъ, а также и карболовую кислоту, мы можемъ вполне асептически

¹⁾ Untersuchungen über Zuckerbildende Fermente, Jahresbericht d. Tierchemie IX, S. 381.

²⁾ L. c., а также Steuberg, Jahresbericht d. Tierchemie, V, S. 293.

произвестъ опытъ превращенія крахмала въ сахаръ, при посредствѣ диастаза, такъ какъ такіа количества этихъ антисептическихъ средствъ, которыя несомнѣнно убивственны для низшихъ организмовъ, еще не уничтожаютъ ферментнаго дѣйствія диастаза.

§ 11. *Опытъ съ пенсिनovýmъ перевариваніемъ*, подъ влияніемъ нѣкоторыхъ антисептическихъ средствъ.

Для опытовъ составлялась пищеварительная жидкость, содержащая на 1 литръ 0,5 grm. пенина (русскаго) очень сильнаго и 0,2% HCl. Объектомъ перевариванія служилъ вареный фибринъ, добытый изъ собачьей крови, въ количествѣ 0,02 grm. отжато и высушеннаго между пропускной бумагой варенаго фибрина на 10 к. с. пищеварительной жидкости. Вареный фибринъ особенно удобно употреблять потому, что, экспериментирова съ нимъ, особенно рѣзко выступаетъ различіа растворюющей способности одной соляной кислоты и кислоты + пенина, что имѣетъ большое значеніе при опытахъ, продолжительность которыхъ значительна. Вареный фибринъ въ одной HCl 0,2% разбухаетъ даже трудно и еще труднѣе растворяется (съ образованіемъ acids-альбуминовы). Между тѣмъ, какъ въ 0,2% HCl + пенинѣ онъ растворяется сравнительно легко. Кроме того, такой вареный фибринъ, будучи, какъ выше сказано, отжатъ и высушенъ между пропускной бумагой, удобенъ для отвѣшиванія. Перевариваніе совершалось всегда при $4^{\circ}35-40^{\circ}\text{C}$. Окончаніе перевариванія опредѣлялось по слѣдующимъ признакамъ: по полному растворенію фибрина, полученію биуретовой реакціи на пенигонъ въ полученномъ растворѣ, по неосажденности отфильтрованнаго раствора нейтральными солями щелочныхъ металловъ + уксусная кислота, по невозлученію осадка отъ желтой кровяной соли + уксусная кислота, по отсутствію образованія осадка при осторожной нейтрализаціи жидкости содой или ѣдкимъ натромъ до слабо-фиолетоваго окрашиванія чувствительной синей лакмусовой бумажки и кипяченія. Кроме того, для сравненія скорости перевариванія при прибавленіи разныхъ агенцій, я поступалъ еще и такъ: прокипяченный съ водой фибринъ прожимался, какъ сказано, между пропускной бумагой и взвѣшивался. Затѣмъ, послѣ окончанія опыта, остатокъ неперева реннаго фибрина собирался на фильтрѣ, водой промывался и, прожатый и высушенный между пропускной бумагой, вновь взвѣшивался.

§ 12. *Опытъ съ сулемой*. (Сулема въ растворѣ употреб-

лявшегося пепсина никакого осадка не вызывала, но средней укусно-кислый свинец давал осадок). Изъ опыта оказалось, что сулема въ количествѣ 1:200 уничтожала не только дѣйствіе ферментное пепсина, но и дѣйствіе HCl (0,2%), такъ что не происходило при этомъ и того разбуханія фибрина, которое происходитъ отъ 0,2% HCl. Это происходило вслѣдствіе того, что сулема въ сказанной концентраціи заставляла фибринъ свертываться, съживаться. Сулема въ количествѣ 1:1,000 вполнѣ уничтожала перевариваніе фибрина; весь фибрина, подвергавшагося въ теченіи сутокъ дѣйствію пищеварительной жидкости и затѣмъ промытаго, прокипяченнаго съ дистиллированной водой и вновь высушеннаго между пропускной бумагой, оказалась вполнѣ равнымъ вѣсу первоначально взятаго фибрина. При 1:2,000, сулема только замедляетъ перевариваніе фибрина, но не уничтожаетъ его. Напр., контрольная проба показывала полное перевариваніе черезъ 2¹/₂ часа, а со сказанной прибавкой сулемы — не раньше какъ черезъ 10—12 часовъ (при t° 40° C). Замедленіе перевариванія замѣтно еще и при 1:4,000 сулемы¹⁾.

§ 13. Салициловая кислота въ количествѣ 1:400 вполнѣ уничтожаетъ перевариваніе. Напр., взято 0,017 прокипяченнаго и высушеннаго между пропускной бумагой фибрина, а послѣ сурочнаго дѣйствія пищеварительной жидкости въ присутствіи 1:400 салициловой кислоты, остатокъ фибрина, промытый, прокипяченный съ дистиллированной водой и высушенный прожиманіемъ между пропускной бумагой — 0,016. Въ разведеніи же 1:1,000 салициловая кислота только замедляетъ перевариваніе приблизительно въ 3 раза, но тѣмъ не менѣе оно совершалось вполнѣ. Напр., взято 0,023 грм. прокипяченнаго фибрина, а послѣ стоянія, въ теченіи ночи при комнатной t° съ пищеварительной жидкостью, найдено всего 0,003 фибрина въ остаткѣ, между тѣмъ, какъ контрольная проба съ одной соляной кислотой (безъ пепсина) за это время едва начала показывать начало разбуханія фибрина. Какъ сказано, рядомъ другихъ опытовъ я убѣдился, что при содержаніи салициловой кислоты 1:1,000 перевариваніе фибрина замедляется прибли-

¹⁾ Также и Max. Marle: Ueber den Einfluss des Quecksilbersublimats auf die Magenverdauung. Jahresbericht d. Tierchemie V. S. 168, являетъ, что сулема въ малыхъ даже дозахъ мѣшаетъ желудочному перевариванію, а въ большихъ — совсѣмъ останавливаетъ его.

зительно въ 3 раза. Слѣдовательно, мои опыты сходятся, до нѣкоторой степени, съ опытами Jul. Müllera²⁾, который нашелъ, что 1:250 салициловой кислоты прекращаетъ неписное перевариваніе.

§ 14. Солянокислый хининъ въ количествѣ 1% вполнѣ уничтожаетъ перевариваніе фибрина и даже такое дѣйствіе производятъ 2/3% хинина. Меньшія количества хинина только замедляютъ перевариваніе. Опишемъ ходъ опыта съ хининомъ. Взято 5 пробъ фибрина по 0,03 прокипяченнаго съ водой и прожатаго между пропускной бумагой фибрина. Ко всѣмъ пробамъ прибавлено по 10 к. с. составленной пищеварительной жидкости (1 грм. пепсина и 4 грм. HCl на 1 литръ воды) и 2% раствора хинина въ такомъ количествѣ, что мы имѣли въ колбахъ такое содержаніе хинина: 1%, 2/3%, 1/2%, 1/4%, т. е. въ первую колбу было влито: 10 к. с. 2% раствора хинина+10 к. с. пищеварительной жидкости; во вторую—10 к. с. пищеварительной жидкости+7 к. с. хиннаго раствора+4 к. с. воды; въ 3-ей—10 к. с. пищев. жидкости+5 к. с. хиннаго раствора+5 к. с. воды и въ 4-ой—10 к. с. пищеварительной жидкости+2,5 к. с. хиннаго раствора+7,5 к. с. воды. Пятая проба контрольная содержала на такое же количество взятаго фибрина 10 к. с. пищеварительной жидкости+10 к. с. воды. Все поставлено въ баню при t° 40° C. въ 11 ч. дня. Въ 2¹/₂ часа проба безъ хинина почти совершенно растворилась, а въ 3¹/₂ часа перевариваніе въ ней совершилось вполнѣ, причемъ получилась совершенно прозрачная жидкость, которая, при посредствѣ вышеописанныхъ реакцій, не давала указанія на присутствіе въ ней бѣлка. Пробы съ 1% и 2/3% хинина не показали ни малѣйшаго растворенія фибрина, вслѣдствіе чего, онѣ были оставлены на ночь, но и на другой день не показали никакого измѣненія фибрина, который только разбухъ. Проба съ 1/4% хинина показала полное раствореніе фибрина черезъ 6, приблизительно, часовъ, а проба съ 1/2%, въ виду того, что перевариваніе фибрина въ ней вечеромъ того дня еще не вполнѣ окончилось, была оставлена на ночь, и на другой день фибринъ въ этой пробѣ оказался вполнѣ раствореннымъ.

§ 15. Антипиринъ и резорцинъ. 2% растворъ Антипирина сильно замедляетъ перевариваніе³⁾. Напр., взято прокипячен-

²⁾ Jahresbericht d. Tierchemie V, S. 286.

³⁾ А въ 3% раствѣрѣ даже и совершенно прекращаетъ.

наго и высушеннаго прожиманіемъ между пропускной бумагой 0,02 грм. фибрина, а послѣ 2 часового стоянія, при t° 40 $^{\circ}$ C., а затѣмъ всю почку при комнатной t° , непереваренный остатокъ = 0,01, т. е. растворилась $\frac{1}{10}$. 1% растворъ антипирина замедляетъ перевариваніе, приблизительно, въ два раза. Резорсинъ въ 2% растворѣ, на сколько я могъ замѣтить, меньше замедляетъ перевариваніе, чѣмъ 2% растворъ антипирина. При 1% же содержания резорсина, перевариваніе было замедлено тоже почти вдвое.

Примечаніе. Въ присутствіи сулемы нельзя дѣлать реакціи съ желтой кровяной солью и уксусной кислотой, ибо и одна сулема даетъ съ желтой солью + уксусная кис. бѣлый, хлопчатый, синѣющий впоследствіи на воздухѣ осадокъ. Въ присутствіи же резорсина нельзя производить буревого реакціи, ибо резорсинъ даетъ въ этомъ случаѣ зелено-оливковое окрашиваніе.

Оканчивая этимъ пока мою работу, я сознаю, что мои изслѣдованія относительно дѣйствія дезинфекціонныхъ средствъ на неорганизованные, пищеварительные ферменты, очень неполны и недостаточны. Но, во всякомъ случаѣ, изъ моихъ опытовъ несомнѣнно слѣдуетъ, что какъ превращеніе крахмала въ сахаръ, такъ и бѣлка въ пептонъ мы можемъ произвестъ въ условіяхъ антисептическихъ, исключаящихъ возможность всякаго развитія микроорганизмовъ.

Здѣсь же я хочу высказать мою глубочайшую признательность глубокоуважаемому проф. И. Р. Тарханову, въ лабораторіи котораго произведена эта работа, за всѣ тѣ полезныя совѣты и указанія, которые онъ удѣлялъ мнѣ, и за то теплое участіе, которое онъ всегда проявлялъ по отношенію къ работающимъ у него. Если же въ моей работѣ есть пробѣлы, то это произошло отъ того, что я, за недостаткомъ времени, не могъ исполнить въ точности всѣхъ указаній высокоуважаемаго Профессора.

ПОЛОЖЕНІЯ.

1. Неорганизованные ферменты (энзимы) нужно считать тѣлами на столько строго индивидуализированными, что каждый изъ нихъ можетъ проявлять присущее ему вліяніе только на одинъ извѣстный классъ органическихъ веществъ.
2. Всѣ пищеварительные опыты съ неорганизованными ферментами, производимые въ особенности при нейтральной или щелочной реакціи, должны происходить въ условіяхъ полной антисептики, такъ какъ въ противномъ случаѣ легко можно принять проявленіе дѣйствія микроорганизмовъ за эффектъ отъ неорганизованныхъ ферментовъ.
3. Въ нѣкоторыхъ условіяхъ расщепленія или распада бѣлковыхъ веществъ, появляются въ нихъ (бѣлкахъ) вещества, обладающія ясно выраженными ферментными свойствами, причемъ въ такихъ расщепляющихся бѣлковыхъ веществахъ могутъ появляться діастатическій или триптичскій энзимы.
4. Въ первыхъ фазахъ дѣйствія низшихъ организмовъ на сложныя органическія вещества образуются гидролитическіе продукты, обладающіе весьма важнымъ питательнымъ значеніемъ для человѣка или другихъ высшихъ организмовъ.
5. Брюшной тифъ на Кавказѣ въ тѣхъ мѣстностяхъ, въ которыхъ господствуетъ перемежная лихорадка, имѣетъ обыкновенно тяжелое теченіе, причемъ самая опасная для больныхъ осложненія чаще всего появляются со стороны кишечнаго канала.
6. Невралгическія головныя боли нерѣдко обуславливаются пораженіями носовой полости и потому при существованіи такихъ болѣй изслѣдованіе носа необходимо.



ВНѢЖОЖИИ
Curriculum vitae.

Игнатій Ильдефонсович Мрочковский, родился въ 1856 году, въ Минской губерніи, происходитъ отъ дворянъ помѣщиковъ этой губерніи, католическаго вѣроисповѣданія. Кончилъ курсъ въ Минской губернской классической гимназіи. Въ 1874 году поступилъ въ С.-Петербургскій Университетъ на факультетъ Естественныхъ Наукъ, гдѣ и окончилъ курсъ въ 1878 году со степенью Кандидата. Въ этомъ же году поступилъ въ В. М. Академію, въ которой кончилъ курсъ въ 1881 году лекаремъ съ отличіемъ (cum eximia laude). Поступилъ на службу (какъ бывшій стипендіатъ) военнымъ врачомъ на Кавказъ. Теперь состоитъ младшимъ врачомъ въ 81 пѣхотномъ Апшеронскомъ полку, въ гор. Т. Х. Шура, Дагестанской области. Во время пребыванія въ Университетѣ и, затѣмъ, состоя на службѣ, напечаталъ нижеслѣдующіе труды.

1. Ueber den Phosphorsäuregehalt im Schafs-Kalbs-und Hundebutserum. Въ Centralblatt für die Medicinischen Wissenschaften, за 1878 годъ. Работа произведена подъ руководствомъ проф. Съченова.
2. Исслѣдованіе объ Абасъ-Туманскихъ минеральныхъ водахъ Тифлисской губерніи. Въ протоколахъ Кавказскаго Медицинскаго общества за 1882—83 годъ.
3. Описание эпидеміи брюшнаго тифа въ гор. Грозномъ, Терской области. Въ «Военно-Медицинскомъ журналѣ» за Сентябрь 1885 года.
4. Къ вопросу о пищевомъ довольствіи солдатъ 21 пѣхотной дивизіи на Кавказѣ. «Въ Военно-Медицинскомъ журналѣ» за Мартъ 1888 года.