

М

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

ДУБЛИКАТ

№ 63.

МАТЕРІАЛЫ

КЪ УЧЕНІЮ

О НЕОРГАНИЗОВАННЫХЪ ФЕРМЕНТАХЪ.

Изъ Физиологическаго Кабинета проф. Тарханова.

Профессоръ
Леонидъ Владиміровичъ

Орловъ.

Диссертация

на степень доктора медицины

И. И. Мрочновскаго.

Цензорами, по постановленію Конференціи, были профессора:

Н. Р. Тархановъ, А. О. Баталинъ, адъюнктъ-лаборантъ С. А. Прибытскъ.

Леонидъ Владиміровичъ

Орловъ.

С.-ПЕТЕРБУРГЪ.

Типографія Д-на Удцова, Моховая, № 56.

1889.

64891

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

№ 63.

ДУБЛИКАТ
7-НОВ 1889
МАТЕРИАЛЫ

КЪ УЧЕНИЮ

577.15
M-79.

О НЕОРГАНИЗОВАННЫХЪ ФЕРМЕНТАХЪ.

Изъ Физиологическаго Кабинета проф. Тарханова.

Профессоръ
Леонидъ Владиміровичъ

ОРЛОВЪ.

Диссертация

НА СТЕПЕНЬ ДОКТОРА МЕДИЦИНЫ

И. И. Мрочновскаго.

Цензорами, по постановленію Конференціи, были профессора:
И. Р. Тархановъ, А. Ф. Баталинъ, адъюнктъ-лаборантъ С. А. Прыбытекъ.

1886 г.

НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА
1-го Харьк. Мед. Института

С.-ПЕТЕРБУРГЪ.

Типографія Д-ча Удвова, Мохомая, № 26.
1889.

1950

Лег. 487-60

7 - ноя 1902

НА ПЕРВЫЙ
1902 ГОД

НЕОРГАНИЗОВАННЫХ ФЕРМЕНТАХ

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

Ученый Секретарь В. Пашутинъ.

64281

Александръ Владиміровичъ
Орловъ.

I. — 0 неорганизованныхъ ферментахъ вообще. Распространеніе ихъ въ животномъ и растительномъ царствахъ. Сравненіе 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 сгораніи, чѣмъ первоначальныя вещества, изъ которыхъ тѣла эти произошли ¹⁾, мы вкратцѣ опишемъ и другія, извѣстныя свойства этихъ энзимъ. При дѣйствіи ихъ на органическія вещества, получаюся 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, свойственные 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 соответственныя имъ измѣненія. См. напр. изслѣдованіе проф. Пашутина — Wirkung d. Speichels auf Amylon. Jahresber d. Tierch. Bd. I. S. 188.

измѣненія органическихъ веществъ происходятъ подъ вліяніемъ ферментовъ (неорганизованныхъ) при известныхъ только условіяхъ, какъ то: опредѣленной t° , 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 третью, всѣ неорганизованные ферменты дѣйствуютъ специфически, т. е. каждый изъ нихъ проявляетъ только одно какое-либо ему присущее дѣйствіе, дѣйствуетъ на одну только какую-либо категорію 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 свободнаго O , что доказывалось посиленіемъ гваяковой тинктуры. На этомъ основаніи Schönbein высказался за повсемѣстное распространеніе ферментовъ въ животныхъ и растительныхъ тканяхъ, ибо вытяжки изъ этихъ тканей обладали свойствомъ въ сказанныхъ условіяхъ, т. е. въ присутствіи H_2O_2 , производить посиленіе гваяковой тинктуры, наравнѣ съ такими, сравнительно, хорошо изученными и изолированными ферментами (энзимами), какъ диастазъ, эмульсинъ и пр. Но, какъ то показалъ Van den Broek ³⁾, гваяковая тинктура снѣжить 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 посиленіе гваяковой тинктуры въ присутствіи H_2O_2 ⁴⁾ въ степени почти столь же значительной, какъ это производятъ и неклипачные растворы. Какъ известно, (Nussbaum. Jahresber. d. Thierch VI, 269) думать найти реакцію на неорганизов. ферменты въ способности ихъ окрашивать-

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

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

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

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

ся, какъ въ водныхъ растворахъ, такъ и при содержаніи ихъ въ протоплазмѣ клеттокъ, въ черной цвѣтъ отъ осмевой кислоты. Послѣ кипяченія, ферменты теряли эту способность. Но Grützner (Jahresber. d. Thierch VII, S. 367) показалъ, что этой реакціи нельзя придавать особеннаго значенія, въ качествѣ указателя для ферментовъ, ибо напр. желѣзистая клетка *gl. submaxill.* кролика лишеныя диастатическаго фермента, окрашиваются въ черной цвѣтъ отъ осмевой кислоты. Какъ бы то нибыло, несомнѣнно, что неорганизованные ферменты (энзимы) представляются веществами далеко еще неполнѣ 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 развѣ показываютъ только, что неорганизованные ферменты содержатъ менѣе углерода и азота, а за то болѣе кислорода, чѣмъ белковые вещества. Слѣдъ намъ пока остается только классифицировать ихъ по проявляемому имъ дѣйствію.

§ 4. Измѣненія разныхъ органическихъ веществъ, обуславливаемая 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 кишечномъ каналѣ подъ вліяніемъ находящихся тамъ энзимъ при актѣ пищеваренія:—превращеніе крахмала въ декстринъ и сахаръ ²⁾, расщепленіе жира на глицеринъ и жирную кислоту, превращеніе гликогена въ сахаръ и превращеніе тростниковаго сахара, подъ вліяніемъ инвертирующаго фермента, въ глюкозу—во всѣхъ этихъ случаяхъ мы имѣемъ дѣло съ присоединеніемъ воды, съ гидратаціей, соединенной съ расщепленіемъ, воспринявшей воду, частицы органическаго вещества. Превращеніе бѣлка въ пептонъ тоже надо считать за процессъ гидратациі, что особенно необходимо послѣ того, какъ

¹⁾ Учебникъ Физиологіи Германиа, Химія пищеваренія проф. Р. Мали.

²⁾ При чемъ сложная частица крахмала, содержащая и $(C_6H_6O_6)$ расщепляется, воспринявшая воду въ количествѣ 1 частицы, на сахаръ и декстринъ (Руконъ къ физиол. Германиа).

Henninger ¹⁾ и Hofmeister ²⁾ доказали, первый обрабатывал 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 бѣлка, как то: свертываемостью при нагревании, осаждаемостью теми солями тяжелых металлов, которая пептона не осаждают, осаждаемостью желтой кровяною солью + уксусная кислота и т. д. Подобное же гидратационное дѣйствие вѣдно признавать, по всей вѣроятности, и за теми ферментами, которые, въ противоположность другимъ, не разжижаютъ органическія вещества, а напротивъ того — свертываютъ ихъ; мы говоримъ слѣд. здѣсь о фибринъ-ферментѣ Al. Schmidt'a и сычужномъ ферментѣ или т. н. «Labfermentъ» Hammarsten'a; ³⁾ Hoppe Seyler сѣплетъ напр. наиболее вѣроятнымъ изъ всѣхъ то предположеніе, что при свертываніи крови подъ вліяніемъ фибринъ-фермента происходитъ внутреннее измѣненіе молекулы фибриногена, соединенное съ воспріятіемъ воды ⁴⁾. Равнымъ образомъ и дѣйствіе Labferment'a Hammarsten'a сводится, по мнѣнію этого ученаго, къ гидролитическому расщепленію казеина на 2 бѣлковыя тѣла, изъ которыхъ одно нерастворимо — сыр.

§ 5. Перечислимъ главнѣйшіе изъ извѣстныхъ неорганизованныхъ ферментовъ. Ферментъ диастатическій, превращающій 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. Пепсинъ и трипсинъ, дѣйствующіе на бѣлковыя тѣла, первый въ кислой, а второй въ особенности въ щелочной средѣ; ферментъ, расщепляющій жиры на глицеринъ и жирную кислоту; сычужный, превращающій растворимый казеинъ въ сыр; 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. Tierchemie II, S. 118; IV, S. 135; VII, S. 158.

⁴⁾ Физиологическая Химія Голле-Зелера.

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 соетанное тѣло, напр. эмальсинъ, разлагающій амилдалинъ на глюкозу, горькоминдальное масло и синильную кислоту, ферментное дѣйствіе мирозина на органическія сѣру содержаща соединенія, заключающіяся въ растеніяхъ сем. Cruciferae, напр. распаденіе мироновой кислоты, заключающейся въ сѣменахъ черной горчицы, на глюкозу, сѣркокалиевую соль и горьчичное масло; ферментъ, превращающій тростниковый сахаръ въ глюкозу и констатированный проф. Пашутинымъ въ слизистой оболочкѣ тонкихъ кишекъ и проч. Какъ извѣстно, дѣйствіе неорганизов. ферментовъ крайне важно: безъ нихъ не могъ бы существовать ни одинъ животный или растительный организмъ, такъ какъ только благодаря неорганиз. ферментамъ, пищевымъ органическія вещества могутъ сдѣлаться удобовошаемыми. Конечно, какъ то справедливо говоритъ Hüfner (Ueber ungef. Fern. Journ. f. prak. Chemie N. F. Bd. 5, S. 372) и при помощи разныхъ химическихъ агентовъ мы можемъ произвестъ 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 t° и пр. Вспомнимъ напр., что слюнный ферментъ переводитъ крахмалъ въ сахаръ при сравнительно низкой t°, 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 царствѣ. Диастатическій ферментъ, заключающійся, главнымъ образомъ, въ слюнѣ и сокъ поджелудочной желѣзы позвоночныхъ животныхъ, но, кромѣ того, находимый во многихъ другихъ тканяхъ и сокахъ этихъ животныхъ, напр. найденный Пашутинымъ, Витихомъ 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 беспозвоночныхъ животныхъ, у которыхъ онъ, впрочемъ, часто вырабатывается, совместно съ другими энзимами, однимъ органомъ — печеню. Напр. Krukenberg нашелъ, 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 образованіи новыхъ тканей. Въ сѣменахъ же непроростающихъ Baranetzky находилъ или очень слабое, или даже никакого диастатического дѣйствія. Тоже и Brasse⁴⁾ высказывается за повсемѣстное распространѣніе 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 послѣдованіямъ Müntz'a⁵⁾, не вредитъ, вообще, дѣйствию диастатическаго и другихъ неорганизованныхъ ферментовъ, убивая въ тоже время бактерий⁶⁾.

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

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

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

³⁾ Baranetzky I. 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 séricité, ni sur les vibrations des sangs putréfiés. Jahr. d. Thierch) не вполнѣ согласенъ съ Müntz'омъ. А по Koch'у (Flügge, I. c.) хлороформъ на споры многихъ бактерий не дѣйствуетъ.

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

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

§ 8. Какъ извѣстно, и въ растеніяхъ найдены растворяющіе бѣлокъ энзимы, переводящіе бѣлокъ въ пептоны. Такъ Darwin и Hooker, первый въ растеніяхъ изъ рода Drosera, примацц. Drosera rotundifolia, а второй у разныхъ видовъ Nepenthes (Nep. rotundifolia, Nep. gracilis) находилъ 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 имѣло мѣсто и съ Helicospersin'омъ Krukenberg'a). Тоже самое нашолъ Gorgur-Besanez и Will¹⁾, экспериментируя съ кислымъ сокомъ, выделяемымъ вышеказанными видами Nepenthes послѣ раздраженія железокъ этихъ растений насѣкомыми. Наоборотъ, нейтрально реагирующій сокъ, который выделялся на раздраженіи железками, не обладавъ переваривающимъ бѣлки дѣйствіемъ. Прибавленіе къ соку вышеказанныхъ органическихъ кислотъ, въ особенности муравьиной, оказалось крайне ускоряющимъ перевариваніе. Замѣтъ, Gorgur-Besanez нашелъ тоже въ проростающихъ сѣменахъ, преимущественно и ячменя, ферментъ, дѣйствующій на бѣзки на подобіе пепсина, т. е. въ кислой средѣ²⁾. Кромѣ пептического, этотъ ферментъ, по Gorgur-Besanez'у, оказывалъ и весьма сильное диастатическое дѣйствіе. Gorgur-Besanez не

¹⁾ Just-Botanischer Jahresbericht, 1876.

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

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

§ 9. Однако, по моим наблюдениям, в проростающих сменах (пшеницы, ржи и гороха) содержится скорбе фермент триптический, а не пепсин, ибо этот фермент растворяет, как я нашел, фибрин лучше всего при нейтральной или слабосиловой реакции, причем сказанная кислая реакция была уже найдена в глицериновом растворе самого фермента. Но в присутствии 0,2% HCl растворения и переваривания фибрина не происходило. Опыты свои я производил как с глицериновыми вытяжками из проросших зерен сказанных растений, причем мелко истолченные зерна настаивались в течение нескольких дней²⁾ с чистым глицерином, в плотно закрытой стеклянной банке, а затем глицериновая вытяжка отфильтровывалась. Или же, для получения фермента в более чистом виде, вышеописанные глицериновые вытяжки осаждались абсолютным алкоголем и осадок оставался стоять 2 недели под спиртом. После чего осадок этот отфильтровывался, высушивался над серной кислотой *in Vacuo* и извлекался водой. Оказалось, что 5—10 капель глицериновой вытяжки из проросших зерен, прибавленная к 15—20 к. с. воды (дистиллированной), в течение 12 часов и даже скорбе (иногда 8—10 ч.) переваривала значительные количества фибрина, лучше всего сырого и гораздо слабее вареного, при нейтральной или слабосиловой реакции жидкости. При этом я должен заметить, что глицериновые вытяжки из проросших семян уже сами по себе обладали ясною реакцией. Фибрин переваривался при t° 35—40° C. При этом он постепенно изъезжался (не набухал почти) и распадался наконец в мелкие куски, превращаясь даже в мельчайшую пыль, оказавшуюся, по своим реакциям, веществом с характером глобулина, что доказывалось растворимостью этой фибриновой пыли в слабых растворах NaCl, осаждением из этих растворов прибавлением MgSO₄ в сухом виде до насыщения жидкости, осаждением—

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

²⁾ Одного или двух.

при разведении раствора (солевого)—водою и пропускании CO₂ и, наконец, свертываемом при нагревании солевых растворов. В жидкости же, полученной после переваривания фибрина, отфильтрованной от вышеописанной пыли, можно было доказать присутствие пептона, при посредстве биуретовой реакции, в порядочном количестве. Подобным образом переваривала фибрин не только глицериновая вытяжка из проросших зерен, но и водный фильтрат, полученный после экстрагирования водою осадка, произведенного обработкою алкоголем глицериновой вытяжки и простоявшего 2 недели под алкоголем. В присутствии 0,2% HCl переваривание фибрина не происходило, а фибрин только разбухал. Вышеописанные водные растворы фермента, будучи разбавлены, теряли вполне свою пищеварительную силу. Зато несомненно, что мы здесь имели дело с ферментом неорганизованным, а не с проявлением жизнедеятельности какого-нибудь микроорганизма, так как прибавление антисептических средств, в дозах уже убийственных для бактерий, мало вредило сказанному перевариванию фибрина. Прибавление же антисептических средств оказывалось необходимым потому, что в осадке, произведенном алкоголем в глицериновой вытяжке из проросших зерен, как оказалось, находились бактерии (или их споры), которые после 2 недельного пребывания под абсолютным спиртом, будучи посылы по моей просьбе Д.-ром Вартановым, дали пышную разводку на агар-агар, желатин и бульон¹⁾. Полученная культуривка в этих средах бактерий, оказавшаяся способными разжижать желатин, будучи прибавлены в самом малом количестве к прокипяченной воде, куда был положен изрядный кусок сырого фибрина, в течение одной ночи при t° 35—40° C. растворили фибрин, при чем в жидкости можно было констатировать присутствие пептона и, в особенности, громадного количества глобулина²⁾. И, собственно, не впадо в ближайшее рассмотрение этих бактерий, а желая только показать, на сколько важно во всех подобных

¹⁾ При этом я работал так, что бактерии вряд ли могли попасть из воздуха в глицер, напр. вытяжку, ибо зерна, хорошо промытые, толклись в прокол. ступке, колба нагревалась до 130° в течение долгого времени.

²⁾ Контрольная же проба такого же фибрина, но положенная в одну прокип. воду без прибавки бактерий, за это время несколько не изменилась.

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

§ 10. Кромѣ сказанныхъ растений, растворяющій бѣлокъ ферментъ найденъ еще въ соѣхъ *Carica papaya*, т. н. *parayotin*'ъ, который, по изслѣдованіямъ *Wurtz'a*, *Bouchet* 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. Но мои опыты показали противное: *parayotin* 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 $\frac{1}{2}$ —1% растворѣ соды. Въ нейтральной средѣ фибринъ (перевариваніе происходило при $^{\circ}$ 35—40° С.) разбѣдался и распадался безъ предшествующаго набуханія, подобно тому, какъ это происходитъ отъ дѣйствія трипсина. Съ другой же стороны, мой *parayotin* дѣйствовалъ замѣтно только на сырой, а не на варенный фибринъ. Но за то, какъ сказано выше, перваго рода фибринъ онъ растворялъ очень быстро при $^{\circ}$ 35—40° С. именно въ кислой средѣ (0,2% HCl), въ теченіи 15—20 минутъ, съ образованіемъ пептона, определяемаго при посредствѣ буревоваго реакціи. При этомъ и дожить сказать, что такъ какъ въ *parayotin*'ѣ уже содержится пептоны, то, чтобы судить о появленіи ихъ при перевариваніи фибрина, дѣлался всегда контрольный опытъ: определялась степень окраски, даваемой растворомъ одного *parayotin'a* и такого же количества этого раствора, послѣ перевариванія фибрина. Разница получалась громадная. Мигъ незачѣмъ прибавлять, что кипяченіе вводило уничтожало такое переваривающее дѣйствіе *parayotin'a* и что контрольная проба, сдѣланная съ одной HCl (0,2%), безъ *parayotin'a* въ такое же время не показала ни малѣйшаго растворенія фибрина. Поэтому въ *parayotin*'ѣ мы имѣемъ смѣсь двухъ ферментовъ: пептического и триптического, судя по его способности растворять и переводить въ пептоны 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 о нахожденіи котораго въ организмахъ 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 показало *Berthelot* ¹⁾ и можетъ быть оттуда изолированъ. Но объ этомъ мы скажемъ ниже.

§ 12. Ферментъ сычужный или «*Labferment*» *Nammarsten'a*, свертывающій молоко при нейтральной или даже слабощелочной реакціи, находимый преимущественно въ желудкѣ телъ, встрѣчается не только у животныхъ, но былъ найденъ и въ растеніяхъ. Такъ *Baginsky* ²⁾ нашелъ, кромѣ *Carica papaya*, еще и въ некоторыхъ другихъ растеніяхъ, напр. въ винныхъ ягодахъ, артишокахъ и пр. сычужный ферментъ, свертывающій молоко при нейтральной или даже слабощелочной реакціи жидкості.

§ 13. Въ такомъ положеніи находились наши свѣдѣнія о дѣйствиіи неорганизованныхъ ферментовъ, когда было найдено, что процессы броженія вызываются низшими организмами и что при этихъ процессахъ получаются, нѣрѣдко, те же продукты, которые происходятъ и отъ дѣйствія ферментовъ неорганизованныхъ. Дѣйствительно, возьмемъ напр. хоть гниеніе бѣлка: мы знаемъ цѣлый рядъ гнилостныхъ бактерій, дѣйствіемъ которыхъ бѣлокъ распадается, причемъ, кромѣ другихъ продуктовъ, появляются: глобулины, пептоны, дейцинъ, тирозинъ и пр. Вотъ напр. перечень некоторыхъ изъ такихъ бактерій ³⁾. *Bacillus putrificus coli* производитъ: пептоны, аммиакъ, жирныя кислоты, тирозинъ, фенолы, индолъ, скатолю 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 вонючіе газы. Bacillus fluorescens liquefaciens—пептонъ, летучія жирныя кислоты, зеленый пигментъ. Bacillus butyricus Hueppe—пептонъ, лейцинъ, тирозинъ, амміакъ, горькія вещества. Bacillus rousaueneus—пептонъ, амміакъ. Bacillus janthinus—пептонъ, амміакъ. 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, причѣмъ дисахараты, воспринимая частіицу воды, расщепляются на двѣ глюкозы. Эти же бациллы обладаютъ рѣзко выраженнымъ діастатическимъ дѣйствіемъ на крахмаль. Напротивъ того, бактерія, производящая масляное броженіе, не обладаетъ 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 «сычужообразно» его свертыванію. Такое свертываніе казеина производятъ напр. Bacil. rousaueneus, sarcina aurantiaca и пр. Изъ другихъ гидролитическихъ процессовъ, производимыхъ микроорганизмами, укажемъ на щелочное броженіе мочи, производимое Microc. Uraee (Torula Uraee), причѣмъ мочевины, воспринимая 2 частіицы воды, переходитъ въ углекислый аммоній, а это есть чистая гидратация.

§ 14. Всѣ эти эффекты вначалѣ объяснялись просто такъ, что бактеріи своимъ жизненнымъ актомъ производятъ *естъ* выше поименованныя измѣненія, которыя, стало быть, неразлучно связаны съ самою жизнью извѣстныхъ низшихъ организмовъ и отдѣлены отъ нихъ быть не могутъ. Напр., Pasteurъ объяснял 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 аэробіеы, требующіе для своей жизни непременно присутствія свободнаго кислорода воздуха, и анаэробіеы, которые могутъ жить и безъ свободнаго кислорода; но въ такомъ случаѣ эти анаэробіеы должны, съ цѣлью питанія, разлагать, способныя къ броженію, органическія вещества, слѣд. именно эти анаэробіеы и притомъ именно при отсутствіи свободнаго кислорода и производятъ явленія броженія. Pasteurъ 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 нитрамолекулярному 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 всетаки кислородъ 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, лишенныя вовсе кислорода среды, въ которыхъ происходили процессы гниенія, при болѣе точномъ изслѣдованіи, оказывались содержащими еще кислородъ, хотя и въ малыхъ количествахъ. А Jeanneret ²⁾ говоритъ, что гниlostные процессы, вызываемые организмами кишечника, какъ разложеніе азотистыхъ веществъ, такъ равно и углеводовъ, могутъ проходить 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 непременно съ жизненнымъ актомъ

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

²⁾ Ueber d. Zerset. d. Gelatine u. Eiweisses durch die geform. Pankreas Fermente bei Luftausschluss, Jahrb. d. Thierch. Bd. 7 u. Journ. für praktische Chemie N. F. XV 1877.

живѣстныхъ микроорганизмовъ. Hoppe-Seyler ¹⁾ объясняетъ всѣ процессы броженія дѣйствіемъ часто химическихъ ферментовъ, которые, хотя и воспроизводятся низшими организмами, но изъ нихъ затѣмъ могутъ быть изолированы и, полученные въ чистомъ видѣ, безъ примѣси бактерій, они (химическіе ферменты) должны воспроизводить полную картину броженія. Онъ говоритъ ²⁾: подобно-тому, какъ человѣкъ производитъ диастатическій ферментъ, пепсинъ, трипсинъ и т. д., имѣютъ и всѣ животныя и растенія свои ферменты, но они не тождественны съ этими ферментами. То же и Liebig, указывая на возможность выдѣлить ферменты изъ клѣтокъ высшихъ животныхъ, высказываетъ противу мысли, что броженіе воспроизводится непосредственно жизненнымъ актомъ бактерій. Но Nencki, Kühne и др. цѣлымъ рядомъ опытовъ доказали, что между дѣйствіемъ собственно неорганизованныхъ ферментовъ и гниеніемъ или броженіемъ, произведенными низшими организмами, существуетъ цѣлая пропасть. Kühne, какъ извѣстно, экспериментировалъ надъ панкреатической железой, желая строго отдѣлить процессъ перевариванія бѣлка, зависящій отъ дѣйствія трипсина, отъ гниlostныхъ процессовъ, которые столь легко происходятъ въ сокъ и настоѣ панкреатической железы. Для разъединенія этихъ двухъ процессовъ, Kühne применялъ салициловую кислоту ³⁾. Kühne бралъ 80 грм. мелко измельченной пангеасы быка, размѣшивалъ въ 2 литрахъ воды и прибавлялъ туда 4 грм. салициловой кислоты. Тогда, по прошествіи нѣсколькихъ часовъ, наступало при 40°С. плавное раствореніе тканей железы, появлялась масса пептоновъ, появлялись лейцины и тирозины, но не появлялся ни подола, ни горючихъ газовъ, ни амміака и т. д. которые, какъ поазаетъ Nencki ⁴⁾, дозываются 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 Pflüger's Archiv Bd. XII, 1876.

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

³⁾ Jahresbericht d. Thierchemie VI. 1876. Ueber d. Verhalten verschied. organ. und unorg. Fermente, S. 372.

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

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

верненно распадалась и образовывалась масса, сравнительно, простыхъ веществъ и дѣйствіемъ на эти же бѣлки неорганизованныхъ ферментовъ, дѣйствіе которыхъ сводилось къ гидратации бѣлка, къ образованію пептона и немногихъ другихъ гидратационныхъ продуктовъ ¹⁾. Однако, не надо забывать, что, сравнительно, столь простые вещества, какъ лейцины, по строенію своему представляющей амидо-капроновую кислоту и тирозинъ, представляющей собою, какъ то показали Бартъ, Вейльштейнъ и Кудльбергъ, по всей вѣроятности, окисениль амидо-пропионовую кислоту пара ряда, имѣющую строеніе $\text{OHC}\cdot\text{N}\cdot\text{—CH}_2\text{—CH}\ (\text{N}\ \text{H}_2)\ \text{CO}\cdot\text{H}$ и называющуюся также амидо-паракумаровою кислотою, равно какъ и аспарагиновая кислота, которая есть амидонитратная кислота, — получаются при трипсиновомъ перевариваніи бѣлковъ и безоснаго участія низшихъ организмовъ. Конечно, фактъ этотъ доказываетъ только, что гидролитическое расщепленіе подъ вліяніемъ энзимъ можетъ идти довольно далеко; но не опровергаетъ факта гидратационнаго дѣйствія энзимъ, ибо по опредѣленіямъ Schützenberger'a (Comp. rend. T. 80, p. 232) лейцины, тирозинъ и другія амидо кислоты получаются изъ бѣлковъ при дѣйствіи H_2O (НО), т. е. подъ вліяніемъ гидратации бѣлковъ. Съ другой же стороны, удалось въ болѣе или менѣе чистомъ видѣ изолировать цѣлый рядъ *симметричныхъ, растворимыхъ энзимъ, произведенныхъ бактеріями*, причемъ эти энзимы производили извѣстныя ферментныя вѣзненія данныхъ органическихъ веществъ и безъ дальнѣйшей помощи бактерій. Такимъ образомъ, какъ бы подтверждался вышесказанный взглядъ Liebig'a и Hoppe-Seyler'a, согласно которому бактеріи только воспроизводятъ химическій, неорганизованный ферментъ, который, и послѣ отдѣленія отъ образовавшихся его бактерій, долженъ воспроизводить всю картину броженія ²⁾.

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

²⁾ Но, какъ будетъ изложено ниже, добитые изъ бактерій эти ферменты (по организ.) или, такъ сказать, бактерійные энзимы, въ дѣйствіи не только воспроизводятъ химическій, неорганизованный ферментъ, который, и послѣ отдѣленія отъ образовавшихся его бактерій, долженъ воспроизводить всю картину броженія ²⁾. Но, какъ будетъ изложено ниже, добитые изъ бактерій эти ферменты (по организ.) или, такъ сказать, бактерійные энзимы, въ дѣйствіи не только воспроизводятъ химическій, неорганизованный ферментъ, который, и послѣ отдѣленія отъ образовавшихся его бактерій, долженъ воспроизводить всю картину броженія ²⁾. Но, какъ будетъ изложено ниже, добитые изъ бактерій эти ферменты (по организ.) или, такъ сказать, бактерійные энзимы, въ дѣйствіи не только воспроизводятъ химическій, неорганизованный ферментъ, который, и послѣ отдѣленія отъ образовавшихся его бактерій, долженъ воспроизводить всю картину броженія ²⁾.

1884
1889

НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА
1-го Харьк. Мед. Института

Положим, добытые бактериальные ферменты ¹⁾ съ одной стороны часто не были вполне чистыми: — нѣрѣдко они содержали еще бактерии или споры ихъ и эффектъ поэтому выходилъ смѣшанный, ибо его можно было отчасти объяснить и непосредственнымъ дѣйствіемъ самихъ бактерий, 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, свободными отъ примѣсовъ другихъ веществъ и бактерий, напр. когда мы его получили въ чистомъ водномъ растворѣ и затѣмъ когда приняли предосторожности отъ видѣнія бактерий 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 бактерии, которыя этотъ ферментъ произвели. Если предъявить всѣ 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 перегородки, между тѣмъ какъ гніеніе проходитъ, что можно было объяснить только образованіемъ во время гніенія растворимыхъ, химическихъ ферментовъ (энзимовъ). Въ то же время Mitscherlich ²⁾ напелъ въ водномъ растворѣ дрожжей вещество, которое имѣло вращательную способность тростниковаго сахара, а затѣмъ Berthelot ³⁾, осаждал алкоголемъ водный настой дрожжевыхъ клѣтокъ, приготовилъ химическій, растворимый ферментъ — *инвертинъ*, 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⁾ Бактеріальнымъ ферментамъ и дѣйсъ называю неорганизованный, химическій ферментъ (энзимъ), произведенный бактеріями и въ 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 произвести алкогольнаго броженія глюкозы и что дѣйствіе его ограничивается одною только гидратацией 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 secrètent l'émulsine, le pancréas d'un animal sécrète la pancréatine et l'estomac du même animal sécrète la pepsine!»

Кромѣ дрожжей, Bourquelot ¹⁾ напелъ, что изъ культуръ *Aspergillus niger* можно выдѣлать и приготовить въ чистомъ видѣ растворимый въ водѣ, химическій ферментъ (энзимъ); имѣющій свойство превращать тростниковый сахаръ и мальтозу въ сахаръ виноградный.

§ 16. Musculus ²⁾ добылъ, осаждая алкоголемъ щелочно-бродящую мочу, выдѣляемую лицами, страдающими катарромъ мочевого 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. имѣло его разрушающее (между тѣмъ, какъ организованные ферменты много выносятся по отношенію къ т³⁾), что карболовая кислота (феноль), легко убивающая организованные ферменты (микроорганизмы), на него не дѣйствуетъ, между тѣмъ, какъ кислоты: серная, 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 признать, что ферментъ, добытый Musculus'омъ, ничего общаго

¹⁾ Comp. rend. T. 97.

²⁾ Ueber die Gährung d. Harnstoffs. Pflüger's Archiv, Bd. XII, S. 214 и Comp. rend. T. LXXIII.

³⁾ Какъ известно, Musculus такимъ образомъ приготовилъ реактивную бумажку на мочевины, т. е. бумагу пропитанную его ферментомъ и высушенную, такъ наз. «*Ferment-Papier*» für Harnstoff, которая, будучи сверху того еще пропитана кругомъ, бурля при погруженіи въ растворъ мочевины.

сь ферментами организованными (микрорганizмами) не вишь, т. е. что онъ, будучи изолированъ, могъ оказывать свое дѣйствие на мочевины и безъ содѣйствія ишихъ организмовъ. Но такъ какъ щелочное броженіе мочи вызывается, какъ извѣстно, извѣстнымъ микрорганizмомъ, то очевидно, что этотъ микрорганizмъ производить сказанное броженіе не непосредственно своимъ жизненнымъ актомъ, а выработавъ только химическій ферментъ, который уже является производящимъ броженіе мочевины агентомъ. Этотъ ферментъ Ladureau¹⁾ 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 Ladureau, ферментъ, оказывалъ свое дѣйствіе 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 клеткахъ зеренъ маиса особый микрорганizмъ, представляющійся въ видѣ вибриона и дающій споры, который имѣетъ свойство вызывать алкогольное броженіе маисовой муки. Если такую бродящую смѣсь фильтровать при помощи искусственной пустоты черезъ глиняные, пористые цилиндры, то мы получимъ растворъ, свободный отъ бактерій, который, будучи даже обработанъ хлороформомъ для убіенія и тѣхъ бактерій, которыя бы могли еще находиться въ такомъ растворѣ, оказался обладающимъ сильнымъ диастатическимъ дѣйствіемъ на крахмалъ. Но если хлороформъ прибавлялся къ смѣси, содержащей растертыя маисовыя зерна съ водою, до начала броженія и этимъ убивались бактерии прежде, чѣмъ онѣ успѣли воспроизвести диастатическій ферментъ, то фильтратъ, полученный при посредствѣ продиживанія 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. 99.

²⁾ Comp. rend. T. 95, 1882.

вился этотъ микробъ, находилъ сильное диастатическое дѣйствіе, 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 гиллостыя бактеріи, развивающіяся на гниющемъ картофелѣ или гниющихъ бобахъ, имѣютъ способность растворять крахмалъ, превращая его въ сахаръ, ежели у нихъ не будетъ въ распоряженіи никакой ѣдкой пищи. Это дѣйствіе, оказываемое бактеріями на крахмалъ, Wortmannъ приписываетъ диастатическому, неорганизованному ферменту, выделяемому бактеріями.

Ферментъ этотъ Wortmannъ осаждалъ алкоголемъ изъ смѣси, содержащей сказанныя бактеріи, полученныя культивировкой въ питательной средѣ, въ которую онъ прибавлялъ: NaCl, Mgso, KNO₃, NH₄PO₄, 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 полагаютъ, отдѣлялъ ферментъ отъ бактерій 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 ѣдкой пищи и, во-вторыхъ, когда имъ предоставленъ въ пользованіе свободный кислородъ. Растворъ же бактерійнаго диастаза производитъ свое дѣйствіе и при отсутствіи свободного кислорода. Слѣд., говорить онъ, такъ какъ, по сдѣланнымъ имъ наблюденіямъ, при отсутствіи свободного кислорода, бактеріи нисколько не вліяютъ на крахмалъ, то еслибы даже въ растворѣ бактерійнаго диастаза и находились еще бактеріи, онѣ, при отсутствіи свободного 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 вліаніе 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 из оставшихся бактериальных спор могли уже развиться взрослые бактерии. Между тем, как известно, действие неорганизованного фермента (диастаза) должно проявляться очень скоро. — С другой стороны, наблюдение Wortmann'a, что в присутствии белковых веществ гиалиновых бактерий не производят диастатического фермента, нам кажется не согласным с опытами Seegen'a, Kratschmer'a¹⁾, а также и моими (которые я опишу ниже), согласно которым, начинающая разлагаться, белковая вещества содержат, диастатически на крахмал действующий, неорганизованный фермент.

§ 19. Растворяющий белка фермент, переводящий их в пептоны, по всей вероятности, должен вырабатываться очень многими бактериями. Быть может, что все бактерии, разжижающие желатину, производят это разжижение при посредстве, вырабатываемого ими, растворяющего белок и клей, фермента²⁾. Однако, если, как мы видели, удалось во многих случаях изолировать в довольно чистом виде разные неорганизованные ферменты (энзимы) от производящих их бактерий, то этого никоим образом нельзя сказать о пептонизирующих белок энзимах, вырабатываемых бактериями. Так проф. E. Salkowski³⁾ показал, что в гниющем фильтре образуется растворяющий белок фермент, действующий и после убийства хлороформом производящих его бактерий. Но Salkowski не выделял этого фермента в чистом виде. Bitter⁴⁾ добыл пептонизирующий белок фермент, выделенный Koch'евскими холерными бактериями и, чтобы отделить фермент от производящих его бактерий, он нагревал смесь этих бактерий (содержавших уже и готовый (неорганизованный) фермент) в течении $\frac{1}{2}$ часа при t° 60°, после чего фермент, который разрушается только при 80°, все еще оказывался действующим на белки. Оба эти пептонизирующие белок фермента действуют на подобие трипсина, т. е. в щелочной среде. Сюда же я могу причислить и свои опыты, а именно: мне удалось из нескольких измененного, вследствие стояния на воз-

¹⁾ Zur Kenntniss der Saccharificirenden Fermente, Jahresbericht d. Tierch. VII u. Pflüger's Archiv XIV, S. 599.

²⁾ Flüge, die Mikroorganismen.

³⁾ Ueber d. Eiweisslösende Ferment d. Fäulnisbacterien, Zeit. f. Biologie XXV, I in Central. f. Phys. № 20, 1889.

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

духу, белка куриного яйца извлечь и получать в чистом виде, в водном растворе, свободном от примесей белковых веществ, фермент, оказавшийся очень сильно действующим, на подобие трипсина, на фибрин. Опыты эти я опишу ниже. Здесь же скажу только, что на основании некоторых, ниже сообщаемых опытов и соображений, я могу заключить, что и у меня подобное превращение белка из состояния недѣляемого в фермент, по всей очевидности, произошло не вследствие действия одного только кислорода воздуха, а именно при помощи бактерий. Так как далее опыты переваривания с помощью образованного фермента я производил в условиях антисептических, то, очевидно, я имел дело с ферментом неорганизованным, который, будучи выделен, мог уже затем и без помощи бактерий проявлять свое действие.

§ 20. Если теперь мы бросим взгляд на вышеописанные опыты, в которых из бактерий (или сред, заменимых этими бактериями) удалось выделить разные химические, неорганизованные ферменты, производящие затем и без действия бактерий химические, свойственные им, изменения органических веществ, то, все таки, мы должны будем сказать, что этим, собственно, гипотеза Hoppe-Seyler'a о независимости брожения от жизненного акта бактерий по столько, что, будто бы, есть явления брожения можно свести к действию каких нибудь чисто химических ферментов, несколько не подтверждается, так 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 полагает, что «eine Identificirung von Ferment mit den Organismen, in welchen es sich bildet, unzulässig ist». Действительно, все эти, изолированные из бактерий, ферменты в состоянии производить только обыкновенные, уже известные, гидролитические изменения органических веществ, изменения крайне важные, как подготовительная ступень к брожению, но не составляющие еще, собственно, процесса брожения. Так инвертирующий фермент преводит растительный сахар только в глюкозу, но не производит вовсе алкогольного брожения полученной глюкозы. Собственно же процессы брожения надо считать неразрывно связанными с жизненным актом самих бактерий и

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

не могущими продолжаться при отсутствии живых микроорганизмов. Такъ Нюерре ¹⁾ не могъ выделить *химическаго* фермента, производящаго молочнокислое брожение (а изменение молочнаго сахара въ молочную кислоту; сопровождаемое выделением CO₂, надо считать за настоящее брожение) и опыты Al. Schmidt'a, который старался выделить такой химический ферментъ изъ молочно-кислой бродящей смеси, Нюерре по справедливости считаетъ неубедительными, такъ какъ возможность присутствія и живыхъ бактерий или споръ ихъ, у Schmidt'a не была исключена.

Дѣйствительно, Al. Schmidt поступалъ слѣдующимъ образомъ: онъ осаждалъ искусую кислоту казеинъ молока, причемъ въ осадокъ вовлекался и ферментъ. Этотъ осадокъ извлекался глицериномъ и вытяжка глицериновая осаждалась алкогolemъ, послѣ чего изъ алкогольнаго осадка ферментъ извлекался водою. Но Нюерре, повторивъ опыты Al. Schmidt'a, нашелъ, что когда, добытый такимъ образомъ, ферментъ производилъ молочно-кислое брожение сахара, то въ растворѣ этого фермента содержались уже и бактерии, а когда это брожение не вызывалъ, то и бактерий въ немъ не было. Слѣдовательно, все дѣло было въ томъ, что растворъ фермента, который Al. Schmidt прибавлялъ къ молочному сахару, уже содержалъ бактерии молочно-кислаго брожения, которыя и произвели то, что Al. Schmidt приписалъ химическому, растворимому ферменту (энзиму). Дѣйствительно, Н. Mayer ²⁾, приѣхавъ разныя антисептическія средства, доказалъ, что ферментъ, производящій молочно-кислое брожение, долженъ быть организованнымъ, ибо дѣйствіе его уничтожается такими средствами, которыя на химическіе ферменты (энзимы) не обнаруживаютъ особеннаго вліянія. А именно, ферментъ этотъ уничтожается: креозотомъ или карболовой кислотой (которая вообще на химическіе ферменты дѣйствуетъ слабо, см. ниже), хлороформомъ, горчичнымъ масломъ, тиомоломъ и т. д. Другія же средства, напр., салициловая кислота, уничтожали этотъ ферментъ, будучи прибавлены въ такихъ дозахъ, которыя убійственны для бактерий, но не для химическихъ энзимовъ.

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

¹⁾ Untersuch. über die Zersetzung d. Milch durch Mikroorganismen, I. c.
²⁾ Ueber d. Milchsäureferment und sein Verhalten gegen Antiseptica. Dissert. Dorpat, 1880. итпр. по Нюерре.

исходить полное распадение 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 вѣроятности, всегда происходитъ при помощи тѣхъ химическихъ ферментовъ, которые, съ дѣлюю предварительной, такъ сказать, обработки материала, производится низшими организмами, то изъ этого уже ясно, насколько могутъ быть важны въ дѣлѣ питанія человека и другихъ высшихъ организмовъ тѣ продукты, которые составляютъ первую (гидролитическую) степень изменения бактеріями сложныхъ органическихъ пищевыхъ веществъ.

II. Опыты, произведенные мною относительно изолированій растворимыхъ химическихъ энзимовъ — диастатическаго и триптического — изъ нѣсколькихъ изменившихся отъ вліянія воздуха желтка и бѣлка куринаго яйца.

§ 1. Матеріалъ для этихъ опытовъ былъ доставленъ мнѣ проф. Тархановымъ, предложившимъ мнѣ испытать ферментныя свойства, приготовленныхъ имъ, глицериновыхъ вытяжекъ изъ бѣлка и желтка куринаго яйца. Поэтому, собственно, инициатива и мысль этихъ опытовъ принадлежатъ 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, изменяясь, могутъ приобрѣтать ферментныя свойства, не нова. Не говоря уже напр., о томъ, что Zymogen ¹⁾ панкреатической железы, въ условіяхъ окисленія, напр., при пропусканіи кислорода, переходитъ въ ферментъ трипсинъ (панкреатинъ), можно указать на опыты Seegen'a и Kratschmer'a ²⁾, которые показали, что весьма многія бѣлковыя 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 изъ-

¹⁾ Podolinski. Beitrag zur Kenntniss des Pancreaticen Eiweissfermentes Pfägers Arch. Bd. XIII.

²⁾ I. c.

³⁾ Руководство къ физиологіи Германія, Химія пищеваренія профессора Р. Мали и I. c.

субстратами диастатического фермента изъ изменившихся бѣловыхъ веществъ никоимъ образомъ нельзя. И Seegen и Kratschmer, поэтому, прямо говорить, что слабое диастатическое дѣйствіе вообще присуще всѣмъ растворимымъ бѣловымъ веществамъ.

Какъ извѣстно, далѣе, проф. Папугинъ показалъ, что нагой слизистыхъ оболочекъ весьма многихъ органовъ обладаютъ слабымъ диастатическимъ дѣйствіемъ на крахмалъ. Но раньше еще Bouchardat ¹⁾ показалъ, что разныя бѣловыя вещества, животнаго и растительнаго происхожденія, при своемъ разложеніи (гниеніи) приобрѣтаютъ диастатическія свойства, а Mulder ²⁾ считалъ превращающіе крахмалъ ферменты просто за бѣловыя вещества, находившіяся въ извѣстномъ періодѣ разложенія ³⁾. Доступъ кислорода къ проростающимъ сѣменамъ, — по Mulder'у, обуславливаетъ тѣ измѣненія бѣловыхъ веществъ, заключающихся въ растеніяхъ, благодаря которымъ эти вещества дѣлаются ферментами (диастатическими). О пептонизирующемъ бѣлокъ ферментѣ, найденномъ Е. Salkowski, мы говорили выше. Но, кромѣ того, уже давно Е. Hüfner нашелъ во многихъ животныхъ тканяхъ, какъ то: легкихъ, слонныхъ железахъ, а также и *въ иномъ сырѣ* 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 большимъ содержаніемъ кислорода въ своей частіи. Поэтому Hüfner высказалъ мысль, что неорганизованные ферменты происходятъ изъ бѣлковъ вслѣдствіе окисленія. Hüfner, Ueber ungef. Fermente und ihre Wirkung. Journ. f. prak. Chemie, N. F. Bd. 5, S. 394, 1872 г. Слѣдов., мысль искать ферменты (энзимы) въ изменившихся бѣловыхъ веществахъ была съ нашей стороны воплоти закона и осталось 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 Stärkebildenden Fermente in d. Pflanzen.

³⁾ Приемъ молекулы такого бѣлаго вещества переходить въ состояніе движенія, въ дѣйствіе состояніа.

⁴⁾ А. Баранецку (И. С.) показалъ, что перѣбдо вытяжки изъ растительныхъ тканей, не имѣвши вначалѣ никакого диастатическаго дѣйствія, приобрѣтали такое послѣ стоянія. Сюда можно также причислить и наблюденіе А. Pöhla (Zur Lehre von Pepton, Ber. d. Deutschen Chemischen Gesell. 1881, Bd. XIV, S. 1365), внашегдаго, 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 подъ стекляннмъ колоколомъ, надъ сѣрной кислотой, подвергаясь постепенной сушкѣ посредствомъ периодически повторявшагося выкачиванія воздушнымъ насосомъ ¹⁾. Они сохранились все время при комнатной т°, т. е. около 16°C. Послѣ высушванія, желтокъ и бѣлокъ (отдѣльно) были тщательно размѣшаны съ безводнымъ глицериномъ, съ которымъ они настаивались въ теченіи 2—3 дней при комнатной т°, для приготоовленія изъ нихъ вытяжекъ, въ вагой закрытыхъ стеклянкахъ. Эти глицериновые 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 водой 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 просвѣтленіе клейстера, который сдѣлался совершенно жидкимъ и Троммеровская проба показала обильное развитіе сахара (между тѣмъ, какъ въ самой глицериновой вытяжкѣ изъ желтка, взятой даже и въ большомъ количествѣ, эта же проба не обнаружила замѣтнаго присутствія сахара). Проба же съ глицериновой вытяжкой изъ бѣлка не показала, даже и послѣ нѣсколькихъ часоваго стоянія, ни малѣйшаго развитія сахара. Послѣ этого былъ предѣланъ 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, провѣтленной, такъ что только на днѣ сосуда оста-

¹⁾ Въ промежуткахъ же между этими выкачиваніями, подъ вышесказаннымъ стекляннмъ колоколомъ находился обыкновенный атмосферный воздухъ, который и дѣйствовалъ на стоявшіе подъ колоколомъ бѣлокъ и желтокъ.

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

Очевидно, стало быть, что при небольшомъ измѣненіи (далеко не доходящемъ до гниенія) куриного желтка отъ дѣйствія на него воздуха, въ желтъкѣ этомъ появилась диастатическій 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 способность 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 пыль. А тамъ, гдѣ была вытяжка изъ желтка, ни малѣйшаго измѣненія фибрина не обнаружилось. Тогда были продѣланы опыты съ кипяченнымъ и некипяченнымъ водными растворами глицериновой вытяжки изъ того же бѣлка: взято опять по 2 к. с. сквашенной 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 прокипячена, 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 пыль. 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), бѣлъ отфильтрованъ отъ сказанной фибриной пыли и съ нимъ продѣлана биуретовая 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 продуктовъ перевариванія) даютъ сплсн или чуть фиолетовое окрашиваніе при производствѣ биуретовой реакціи; такое же окрашиваніе получилось и въ той пробѣ, въ которой находилась фибринъ и прокипяченная вытяжка изъ бѣлка, между тѣмъ, какъ въ той пробѣ, въ которой находилась некипяченная вытяжка и которая вновь переварила фибринъ, окрашиваніе получилось чисто розовое.

Такимъ образомъ, въ порціи, содержавшей некипяченную глицериновую вытяжку изъ бѣлка и переварившей положенный въ нее фибринъ, мы имѣли развитіе пептона. Что же касается выше сказанной пыли, оставшейся послѣ исчезновенія фибрина, то она оказалась глобулярнаго характера: она растворялась въ слабыхъ растворахъ NaCl ; полученные растворы (солевые) осаждались: MgSO_4 , прибавленной въ сухомъ видѣ до насыщенія жидкости, разбавленіемъ водою и пропусканіемъ CO_2 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 продѣлать опытъ перевариванія въ условіяхъ антисептики, чтобы обезопасить себя какъ отъ тѣхъ бактерий, которыя бы могли находиться въ водномъ растворѣ сквашеннаго неорганизованнаго фермента, такъ равно и отъ тѣхъ, которыя бы могли послѣ попасть въ пищеварительную жидкость. Чтобы избѣгать при своихъ пищеварительныхъ

опытах влияния бактерий, я пользовался 2-мя антисептическими средствами: салициловой кислотой и солянокислым хином. Конечно я употреблял эти вещества в такой концентрации, которая не уничтожала бы действия химического фермента, а между тем, была бы достаточна, 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 противобактериальных мер.

Руководствуясь сь одной стороны известными данными De la Croix, Miquel'я и Koch'a¹⁾, а сь другой—тими результатами, которые я получил при определении действия антисептических средств на неорганизованные ферменты вообще, я употреблял салициловую кислоту в таком количестве, чтобы содержание ея в пищеварительной жидкости=1:800 и даже 1:600, а хиини=1:400 и даже 1:200. И оказалось, что и в присутствии вышесказанных антисептиков переваривание фибрина глицириновой вытяжкой из бѣлка происходило. Однако нужно сказать, что 1:600 салициловой кислоты и 1:200 хиинина уже несколько замедляло растворение фибрина, так что при употреблении послѣдняго средства появлялась очень резко выраженная мутьность пищеварительной жидкости в видѣ хлопьев глобулинового характера. Микроскопическое исследование не обнаружло в жидкости, послѣ окончания опыта, ни малѣйших признаков бактерий, так что можно было сказать, что растворение фибрина произвелъ химической, неорганизованный ферментъ.

Но фермента этого в сѣвѣжкѣ бѣлка куриного яйца, какъ то показали слѣдующій опытъ, не содержитъ. А именно: бѣлокъ сѣваго куриного яйца былъ прямо опущенъ в абсолютный алкоголь и оставленъ 2 недѣли подъ спиртомъ. Осадокъ отфильтровать, высушить in vacuo, растереть в порошокъ и в теченіи нѣсколькихъ дней оставленъ стоять сь безводнымъ глицириномъ. Затѣмъ взято 2 к. с. отфильтрованной глицириновой вытяжки, разбавлено водою до 15 к. с., туда прибавленъ кусокъ фибрина (сыраго) и затѣмъ все поставлено в термостатъ, на ночь, при $t^{35-40^{\circ}\text{C}}$. На другой день—ни малѣйшаго измѣ-

¹⁾ Flügge, die Mikroorganismen. I. c.

ненія фибрина. Очевидно, стало быть, *растворяющей фибринъ ферментъ появился в бѣлкѣ куриного яйца, когда этотъ бѣлокъ началъ разлагаться* (причемъ дѣло еще до гниенія не дошло) вслѣдствіе действия на него воздуха или, лучше сказать, заключающагося в воздухѣ бактерий.

Теперь спрашивается, какаго же характера былъ этотъ, растворяющій бѣлокъ, неорганизованный ферментъ, появляющійся в бѣлкѣ куриного яйца при указанныхъ условіяхъ. То есть, имѣетъ-ли онъ характеръ пепсина или трипсина? Для разрѣшенія этого вопроса былъ предѣланъ опытъ перевариванія при прибавленіи 0,2% HCl и 1/2% соды, и оказалось, что в присутствіи 0,2% HCl перевариванія фибрина не происходило, а прибавленіе соды в количествѣ 1/2% несколько перевариванію не предло, а скорѣе помогло. Слѣдовательно, в виду этихъ фактовъ, да и самого вида перевариванія фибрина, который при этомъ, какъ сказано, распадался в мелкую пыль глобулинового характера, надо признать, что ферментъ имѣлъ характеръ трипсина, а не пепсина.

§ 5. Однако, нужно было еще выдѣлить этотъ ферментъ изъ глицириноваго раствора в болѣе чистомъ видѣ, свободномъ отъ бѣлковъ и сь этимъ чистымъ ферментомъ вновь предѣлать тѣ же опыты. Для получения фермента в чистомъ видѣ, вышесказанная глицириновая вытяжка изъ измѣненнаго бѣлка была осаждена избыткомъ абсолютнаго алкоголя и оставлена стоять 2 недѣли подъ этимъ алкоголемъ, чтобы перевести бѣлковыя вещества в нерастворимое состояніе, какъ это дѣлалъ Al. Schmidt при добываніи своего фермента, свертывающаго кровь. Послѣ этого, осадокъ былъ отфильтрованъ отъ спирта, высушенъ in vacuo надъ сѣрной пластой и извлеченъ холодной водою. Сь полученной водной вытяжкой, которая должна была содержать растворъ искомаго фермента и которая была настолько свободна отъ бѣлковъ, что присутствія ихъ нельзя было доказать никакими известными реакціями, и что даже сулема не производила въ этомъ растворѣ замѣтнаго помутнѣнія, я предѣлалъ слѣдующій опытъ: взято 4 порціи полученной водной вытяжки, по 15 к. с. каждая и в 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 обѣ послѣднія порціи положено по ровному иррадиному количеству промѣтаго фибрина. Затѣмъ все оставлено стоять въ термостатъ при $t^{\circ} 35-40^{\circ}$ С. 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 завила 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 болшею.

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 присутствіе значительнаго количества пептона, судя по получившейся окраскѣ. Затѣмъ пептана, оставшаяся послѣ перевариванія фибрина, пыль и она оказалась глобулиннаго 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 $\frac{1}{2}\%$ перевариванію нисколько не вредило. Слѣдовательно, мы имѣли дѣло съ ферментомъ трипсинообразнымъ. Я полагаю, что опыты эти достаточно убѣждаютъ, что: *въ начальной стадіи разложенія белка (изъ куринаго яйца), измененнаго осалотностію въ присутствіи на него воздуха, развивается въ этомъ белкѣ трипсинообразный ферментъ, производящій перевариваніе фибрина и безъ содѣйствія бактерий* (въ условіяхъ антисептики) и будучи выдѣленъ въ совершенно чистомъ видѣ, совершенно свободнымъ отъ белка.

§ 6. Спрашивается теперь, что же, собственно, произвело такое измѣненіе белка и желтка куринаго яйца, вслѣдствіе котораго въ белкѣ появлялся триптический, а въ желткѣ — диа-

статическій ферментъ? Произвелъ ли такое измѣненіе воздухъ, т. е. его кислородъ, какъ таковой, или же это измѣненіе произвели, находящіяся въ воздухѣ, бактеріи? (Wortmann ¹⁾ высказываетъ за то, что бактеріи, при содѣйствіи кислорода, производятъ діастиическій ферментъ; мои опыты, къ которымъ я теперь перехожу, тоже говорятъ въ пользу того, что, безъ бактерій, одинъ кислородъ воздуха не можетъ превратить въ состояніе дѣятельнаго фермента белковые вещества, лишенные ферментныхъ свойствъ. А именно оказалось, что если свѣжее куриное яйцо, *неразбитое*, значитъ, снабженное скорлупой, высиживать при $t^{\circ} 35-40^{\circ}$ С., то даже и на 10 день, ни въ белкѣ, 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 свѣжѣмъ желткѣ куринаго яйца содержится пептический ферментъ, дѣйствующій только въ кислой средѣ. Діастиическаго же и триптического ферментовъ въ такомъ желткѣ не имѣется. Дѣйствительно, и я не нашелъ въ свѣжѣмъ желткѣ діастиическаго 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 примѣнялъ я, т. е. осажденіе желтка абсолютнымъ спиртомъ, подъ которымъ желтокъ сохранился затѣмъ продолжительное время, то пазъ обработаннаго такимъ образомъ и высушеннаго впоследствии in vacuo желтка нельзя глицериномъ извлечь никакого пептическаго фермента, какъ это признаетъ и Krukenberg, который поэтому извлекалъ прямо (безъ предварительной обработки алкоголемъ) ферментъ пазъ желтка при посредствѣ глицерина и получалъ при этомъ крайне мутные, нечистые растворы, но дѣйствовавіе 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 белокъ заключалъ трипсинообразный ферментъ и не заключалъ діастиическаго, а измѣнившійся куриный желтокъ — діастиическій, объясняется такъ: ³⁾ Ueber das Diastatische Ferment der Bacterien. Zeit. f. Phys. Chemie. Bd. VI. ⁴⁾ Ueber ein pepsisches Enzym im Eidotter vom Huhn. Unters. aus d. Phys. Institute d. Univ. Heidelberg, 1882, Bd. 2, S. 273.

желток, наоборот, заключал диастатический и не заключал триптического фермента, объясняется просто тѣмъ, что *зиммесская натура* бѣловыхъ тѣлъ, заключающихся въ бѣлкѣ и желткѣ куриного яйца, различна и потому при дѣйствіи воздуха (и бактерий) они измѣняются неодинаковымъ образомъ и въ результатѣ даютъ неодинаково дѣйствующие ферменты. Я не отвергаю, впрочемъ, возможности, что и яичный бѣлокъ можетъ въ извѣстныхъ условіяхъ, образовать диастатическій ферментъ. Для того, чтобы рѣшить этотъ вопросъ, слѣдуетъ посмотреть, какъ будутъ измѣняться, въ смыслѣ образования изъ нихъ различныхъ ферментовъ, подъ вліяніемъ столнія на воздухѣ, разные виды бѣловыхъ веществъ, какъ то: яичный альбуминъ, поразглобулинъ, вителлинъ, сывороточный 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 и 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 частью панкреатич. железы, происходившемъ при t° 35—40° С., на посредствѣмъ глиперина, 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 условіяхъ, и безъ бактерий произвести такія измѣненія бѣловыхъ веществъ, вслѣдствіе которыхъ эти бѣловыя вещества переходятъ въ состояніе дѣятельныхъ химическихъ ферментовъ (энзимъ), то покада на него нельзя отвѣчать ни положительно, ни отрицательно. Укажемъ только на то обстоятельство, что Марсано ²⁾ нашелъ въ проростающихъ маисовыхъ зернахъ микроорганизмы, производящіе диастатическій ферментъ, очевидно происшедшій на счетъ бѣловыхъ веществъ зерна, разложившихся подъ вліяніемъ жизнедѣятельности этого микроба. Кроме того, Марсано нашелъ, что микробъ, находившійся въ непроросшихъ зернахъ, на наружной оболочкѣ,

при проростаніи проникалъ внутрь зерна (что не трудно себѣ представить, въ виду тѣхъ разрывовъ, которые появляются на наружной оболочкѣ зеренъ при ихъ проростаніи ¹⁾). И я нашелъ тоже бактеріи въ осадкѣ, образовавшемъ алкогольъ въ глицереновой вытяжкѣ изъ проросшихъ зеренъ. Въ виду этого, а также факта, констатированнаго Ваганетцку ²⁾, что раствореніе крахмальныхъ зеренъ, при проростаніи сѣмянъ, всегда происходитъ раньше на виѣшней поверхности сѣмени, прилегающей къ наружному воздуху, я полагаю не будетъ очень сѣмьлымъ и въ проростающихъ зернахъ, изслѣдованныхъ мною, поставить въ зависимость отъ найденныхъ бактерий происхожденіе пептонизирующаго бѣлка фермента, констатированнаго въ этихъ зернахъ, причемъ сказанныя бактеріи должны превращать бѣлков. вещества зерна въ состояніе фермента.

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

§ 1. Уже изъ предыдущаго было видно, что бактеріи могутъ нѣрѣдко симулировать 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 энзимы. Вспомянемъ, 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 бактерій. По этому сознанію о необходимости производить всѣ пищеварительныя опыты съ неорганизованными ферментами въ условіяхъ 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, прибѣгаютъ, при своихъ опытахъ по перевариванію, тотъ или другой методъ антисептики. Укажемъ

¹⁾ Хота Laurent Jahresberichte d. Tierchem. XVI, (481) 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.

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

²⁾ Marcano L. c.

для примѣра хоть на недавно появившуюся работу Harris'a и Tooth'a¹⁾, которые производили опыты какъ пепсиноваго, такъ и панкреатическаго пищеваенія въ условіяхъ антисептики. Въ особенности, конечно, важно примѣнять антисептическія предосторожности, производя опыты перевариванія въ нейтральныхъ или щелочныхъ средахъ, а также и слабощелочн., но гдѣ присутствующая кислота есть слабая органическая, такъ какъ тамъ, гдѣ, какъ напр., при пепсиновомъ пищеваеніи, мы имѣемъ дѣло съ кислотой минеральной, которая въ разведеніи 1 : 500 и даже меньше, по изслѣдованіямъ Koch'a, Miquel'я 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 извѣстной работы Kühne съ панкреатической железой, еще на работу Н. Mayer'a, цитированную выше³⁾, а также и на пивир. выше работу Н. Васильева.

§ 2. Дѣйствительно, безъ этой предосторожности, можно нерѣдко 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 *субочнаго* (!) стоянія при t° 30—35°, получали вещества глобулиннаго характера. Я, съ своей стороны, продолжалъ слѣдующій опытъ, на основаніи котораго могу, мнѣ кажется, придти къ заключенію, что гг. Михайловъ и Кравковъ имѣли дѣло не съ дѣйствіемъ фермента неорганизованнаго (диастаза) на бѣлки, а съ проявленіемъ жизнѣдѣтельности микроорганизмовъ. Именно я приготовилъ глицериновую вытяжку изъ продажнаго яичнаго солода и вытяжку эту осадилъ изъ быткомъ абсолютнаго алкоголя. Затѣмъ я обработалъ часть

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

²⁾ Flogge, die Mikroorganismen, 1886.

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

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 былъ 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 перенаривающей жидкости салициловой кислоты даже въ количествѣ 1 : 1,200 (а такое количество салициловой кислоты не прекращало ея сахарифицирующаго дѣйствія этого раствора диастаза на крахмалъ, какъ я въ томъ убѣждался) тоже препятствовало развитію бактерий и прекращало раствореніе (распаденіе) 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 смѣломъ употреблять эти кислоты въ качествѣ антисептиковъ при своихъ опытахъ, такъ какъ они нашли, что бѣлокъ предохраняетъ диастазъ отъ разрушительнаго на него дѣйствія кислотъ¹⁾. Слѣд., изъ нужно было, если ужъ они боялись разрушить диастазъ прибавленіемъ салициловой кислоты въ дозахъ достаточныхъ для убіенія бактерий (т. е. около 1 : 800—1 : 1,000), кислоту эту прибавлять прежде къ яичной бѣлковинѣ, а затѣмъ уже туда прибавлять растворъ диастаза (вѣдь г. Кравковъ самъ же доказалъ важность *порядка* прибавленія кислоты и бѣлка въ опытахъ съ диастазомъ²⁾). А для карболовой кислоты они могли и этого

¹⁾ Что, впрочемъ, уже гораздо раньше (въ 1885 г.) найдено Chittenden'омъ и Cummins'омъ (см. Jahresbericht d. Tierchemie, Bd. XV).

²⁾ Статья г. Кравкова, въ Ж. Р. X. О. 1887, (1) 387 «О органахъ 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 хиининъ. Впрочемъ мнѣніе, что одинъ и тотъ же ферментъ можетъ оказывать и диастатическое дѣйствіе на крахмалъ, превращая его въ сахаръ и пептическое на бѣлки—не ново: когда Gogur-Besanez¹⁾ нашель 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 Gogur-Besanez имѣлъ дѣло не съ однимъ, а съ 2 ферментами, которые только не были пмъ отдѣлены другъ отъ друга. Ибо вся масса извѣстныхъ фактовъ по этому предмету приводитъ къ убѣжденію, что всякій неорганизованный ферментъ можетъ оказывать дѣйствіе только на одну категорію органическихъ веществъ. Да, кромѣ того, у меня имѣются опыты, говорящіе тоже въ пользу существованія адесъ 2 ферментовъ. А именно, я нашель, что 1—2% растворы хиинина, которые, какъ увидимъ, на превращеніе диастазомъ крахмала въ сахаръ, не оказываютъ вреднаго вліянія, препятствуютъ растворяющему бѣлокъ дѣйствію фермента, добытаго изъ проросшихъ зеренъ. Наоборотъ, салциловая 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) превращиванію фибрина ферментами, добытымъ изъ проросшихъ зеренъ, не мѣшаетъ.

§ 3. Какъ бы то ни было, изъ всего вышеназложеннаго уже видно, что нѣтълько 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 восаны раньше, чѣмъ бактерии успѣютъ ихъ разложить на такіа простые вещества, которыя въ дѣлѣ пп-

¹⁾ l. c.

танія уже не могутъ быть полезными, то, очевидно, организмъ получить въ такомъ случаѣ вполне пригодный для него пищева- рительный продуктъ¹⁾. Какъ извѣстно также, организмъ имѣетъ разныя приспособленія для того, чтобы умѣрить дѣйствіе (измѣняющее пищевыя вещества) сказанныхъ гнилост- ныхъ бактерий и изъ этихъ приспособленій одно изъ главнѣй- шихъ есть, бесспорно, антисептическое дѣйствіе желчи. Но въ извѣстныхъ условіяхъ, т. е. при быстромъ всасываніи пер- выхъ, гидролитическихъ продуктовъ дѣйствія бактерий на пи- щевыя вещества, функція этихъ микроорганизмовъ очень по- лезна и извѣстна случая, когда при полной невозможности поступленія въ кишечникъ какихъ бы то ни было пищева- рительныхъ соковъ и заключающихся въ нихъ неорганизова- нныхъ ферментовъ, тѣмъ не менѣе, введенныя пищевыя ве- щества, по крайней мѣрѣ бѣлокъ и крахмалъ, отлично перевари- вались и, переходя въ пептоны и сахаръ, всасывались. Сюда относится случай фистулы кишечника, наблюдавшійся Вушемъ, а также и извѣстные опыты Биддера и Шмидта со введеніемъ въ кишечникъ коней, изолированный отъ притока пищева- рительныхъ соковъ, пищевыхъ веществъ²⁾. На то обстоятельство, что микроорганизмы могутъ своею жизнедѣтельностью помо- гать неорганизованнымъ ферментамъ въ дѣлѣ пищеваренія, указываютъ также опыты Д-ра Рачинскаго, который, работая въ 1888 году подъ руководствомъ проф. Багалина, нашель въ желудкѣ собаки, кормимой мясомъ, 3 рода бактерий, разжи- жающихъ желатину и пептонизирующихъ бѣлокъ³⁾. Также и W. Miller (Ueber Gährungsvergänge im Verdauungstracte und die dabei theilgenommenen Spaltpilze) Jahresbericht d. Thierchemie XV, S. (509) нашель въ пищеварительномъ трактѣ много микро- организмовъ, изъ которыхъ нѣкоторые дѣйствовали диастатиче- ски, а другіе—пептонизирующимъ на бѣлки образомъ. Конечно, какъ справедливо замѣчаетъ Noncki, возражалъ противъ Pasteur'a, въ воплнѣ нормальныхъ условій организмъ мо- жетъ обойтись и безъ вспомогательнаго дѣйствія бактерий, бу- дучи снабженъ въ достаточной степени неорганизованными, химическими ферментами (энзимами).

¹⁾ Руководство къ физиологій Германна, Химія пищеваренія проф. Р. Мали.

²⁾ Руководство къ физиологій Германна, Химія пищеваренія проф. Р. Мали, стр. 318.

³⁾ Пептонизирующія бѣлокъ бактерии въ желудкѣ собаки.

§ 4. Очевидно, стало быть, что желая, при помощи антисептических средств, разредить явления, обуславливаемые 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, являющаяся в литературе данная часто не вполне верна в количественном, по крайней мере, отношении и даже противуречат друг другу. Так напр., согласно Jul. Müller'y¹⁾, салциловая кислота в пропорции 1:250 уничтожает пенисовое пищеварение вполне, а по Kühne²⁾, эта же кислота, прибавленная к пенису в избытке, до образования кристаллической кашицы, пенису не вредит и перерабатывающего его действия не нарушает. Къ сожалѣнью, за недостаткомъ времени, я могъ вслѣдовать въ этомъ направленіи сравнительно немного антисептическихъ средствъ и то только по отношенію къ двумъ неорганизованнымъ ферментамъ, а именно, по отношенію къ диастазу солода и пенису.

§ 5. Опыты были прежде всего начаты съ диастазомъ. Диастазъ былъ приготовленъ по способу, близкому къ тому, который применялъ Рауен³⁾, а именно: было взято 1½ фунта продажнаго пшеничнаго мелкосмолаго солода и настояно съ дистиллированной водой, при t° 35—37° С. Настой отфильтрованъ, къ фильтрату прилитъ 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. Получилась 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 получался совершенно прозрачнымъ, а затѣмъ прибавлена къ 500 частямъ по вѣсу пшеничнаго (я для всѣхъ своихъ опытовъ съ диастазомъ бралъ

пшеничный крахмалъ) крахмала, свареннаго въ 50—100 разъ большею по вѣсу количеству дистиллированной воды, т. е. къ 1—2%, крахмальному клейстеру, моментально (1—2 минуты) просѣяла этотъ клейстеръ, разжижала его и Троммеровская проба показывала обильное развитие въ жидкости сахара. Поставленная же въ термостатъ или баню (я при своихъ опытахъ пользовался масляной баней въ видѣ лѣпка съ двойными стѣнками, въ которомъ t° поддерживалась всегда очень точно на желаемой высотѣ) при t° 60° С. эта смѣсь крахмала и диастаза измѣнилась такимъ образомъ, что растворъ іода въ іодистомъ калиѣ давалъ сначала въ теченіи нѣсколькихъ минутъ все еще синее окрашивание (растворимый крахмалъ или амидулинъ Nasse былъ еще въ избыткѣ). Затѣмъ окрашивание отъ іода получалось фиолетовое — смѣсь эритродекстрина Брюкке и растворимаго крахмала; затѣмъ отъ іода получалось красное окрашивание — эритродекстринъ и затѣмъ, приблизительно черезъ 4 часа, исчезла всякая реакція съ іодомъ и развѣ на днѣ сосуда оставался небольшой осѣдъ, чуть замѣтно розоваго окрашивающійся еще отъ іода въ розовый цвѣтъ, вся же жидкость дѣлалась совершенно прозрачной, какъ вода, и показывала обильное развитие въ ней сахара. Сахаръ опредѣлялся количественно титрованіемъ Фелинговой жидкостью, титръ которой былъ поставленъ по виноградному сахару, химически чистому и лишенному высушиваніемъ при 70° кристаллизаціонной воды. Такое опредѣленіе сахара, произведенное тогда, когда весь крахмалъ измѣнился на столько, что прибавленіе іода къ жидкости не давало уже болѣе никакого окрашивания, показало, что, судя по количеству возстановленной окиси мѣди, ½ крахмала перешла въ сахаръ, вычисленный какъ виноградный, хотя здѣсь, конечно, образовалась мальтоза, а ½ — въ декстринъ, неокрашивающійся отъ іода, т. е. акродекстринъ Брюкке, т. е. реакція происходила по слѣдующей формулѣ: $2C_6H_{10}O_5 + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_6H_{12}O_5$. Но если принять во вниманіе, что редуцирующая способность мальтозы относится къ редуцирующей способности винограднаго сахара какъ 66:100, то количество мальтозы составитъ около 75% взятаго крахмала, что согласно съ данными O'Sullivan'a¹⁾. При этомъ я долженъ замѣтить, что въ болѣе раннихъ стадіяхъ действия диастаза на крахмалъ, когда въ жидкости еще содержалась смѣсь мальтозы, амидулинъ

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

²⁾ Рукоч. изъ физиологіи Германна, отд. проф. Р. Малл.

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

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

ла 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 непреращенного еще крахмала), что вполне согласно съ показаніями Грисмайера, въ противоположность тому, что говоритъ Брюкке, по которому раньше всего съ йодомъ соединяется амидулинъ, а затѣмъ эритродекстринъ.

§ 6. Затѣмъ переходю къ опытамъ съ антисептическими средствами. Но прежде я долженъ сказать, что мой диастазъ почти не давалъ указаній на присутствіе въ немъ бѣлковъ: кантопротенновалъ реакція получалась крайне неясной, равно какъ и биуретовая. Уксуснокислый свинецъ, средній и основной, осадка не давалъ, но отъ сулемы все еще получалось слабое помутнѣніе.

Опытъ съ карболовой кислотой. Взято 6 кобъ и въ каждую изъ нихъ налито по равному числу куб. сантиметровъ 1% крахмального клейстера, хорошо прокипяченнаго и затѣмъ въ каждой пробѣ прибавлено *разное* количество куб. сантиметровъ воднаго раствора карболовой кислоты. Карболовая кислота бралась для растворенія кристаллическаго, химически чистаго. 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 кобъ было прибавлено по одинаковому числу куб. сантим. воднаго раствора диастаза, причемъ диастазъ брался въ пропорціи 1 вѣсовой части на 250 вѣсовыхъ частей крахмала. Кромѣ того, приготоваена 7 контрольная проба крахмального клейстера и диастаза, но безъ карболовой кислоты. Послѣ всего этого мы имѣли въ кобъхъ слѣдующія концентрации карболовой кислоты: 5%, 4%, 3,75%, 3%, 2,5% и 2% и 7-я проба — 0%. Всѣ кобъ въ одно время поставлены въ баню при t° 60° C. Послѣ 4 часовъ стоянія онѣ вынуты и прокипчены для прекращенія дальнѣйшаго дѣйствія диастаза на крахмалъ, за исключеніемъ только первыхъ трехъ кобъ (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 кобъ 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 окрашенія. Проба съ 3% карболовой кислоты дала сахара въ 30 разъ меньше, чѣмъ контрольная проба (безъ прибавки карболовой кислоты); проба съ 2,5% карболовой кислоты дала сахара въ 10 разъ меньше, чѣмъ 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 даже день не найдено ни малѣйшихъ слѣдовъ сахара и незамѣтно ни малѣйшаго разжиженія крахмала. Количество сахара, какъ сказано, опредѣлялось титрованіемъ Фелинговаго жидкостью, причемъ я долженъ замѣтить, что мною не проводывалась вся сложная процедура, которая приводится въ книгѣ проф. Забѣлина¹⁾, т. е. осажденіе декстрина и непреращенного еще крахмала спиртомъ, выпариваніе спиртоваго раствора на водной банѣ, раствореніе, полученнаго отъ выпариванія, сухаго остатка въ водѣ и уже титрованіе тогда этого раствора Фелинговаго жидкостью. Вмѣсто всего этого я прямо титровалъ жидкостью, полученную, какъ продуктъ дѣйствія диастаза на крахмалъ, не выдѣляя отсюда декстрина и непреращенного крахмала, если этотъ послѣдній еще находился въ жидкости. И я думаю, что такъ поступать будетъ вѣрнѣе, ибо, при осажденіи спиртомъ непреращенного крахмала и ахроодекстрина, изъ смѣси, вмѣстѣ съ декстриномъ, увлекается и сахаръ, который, повторной даже обработкой спиртомъ, вновь выдѣленъ быть не можетъ²⁾, черезъ что слѣдовательно происходитъ потеря³⁾. Итакъ, даже 3% растворъ карболовой кислоты не уничтожаетъ вновь дѣятельности диастаза, а между тѣмъ такой растворъ карболовой кислоты, конечно, бактеріи убьетъ.

¹⁾ Журналъ по Фармакологіи, проф. Забѣлина, за 1876, стр. 191.

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

³⁾ *Примѣчаніе.* Фелингова жидкость готовилась такимъ образомъ: 34,5 гр. мѣднаго купороса растворилось въ 200 к. с. воды, затѣмъ въ другой кобъ растворилось 173 гр. двойной нейтральной виннокислотно-кальевонатріевой соли (сенегетовой) въ 500 к. с. раствора NaHO, причемъ этотъ растворъ NaHO имѣлъ вѣрность по ареометру — 1,12. Послѣ же сгущенія обоихъ растворовъ вмѣстѣ, все добавлялось до литра дистиллированной водой. Растворъ Фелинговаго жидкости хранился на холоду и въ темной стеклянѣ. (Копляковъ, анализъ мочи, 173.)

Эти мои результаты согласуются с данными других исследователей, напр. Detmer'a¹⁾, который тоже находит, что даже относительно большая количества карболовой кислоты не уничтожают сахарофицирующей способности диастаза, а именно: при 1 и 1,2% содержания карболовой кислоты количества образовавшегося сахара почти не различались от тех чисел, которая дала контрольная проба (без прибавки карболовой кислоты). Также и на сахарофицирующую деятельность слюны карболовая кислота, по определениям напр. Jul. Müller'a²⁾ не вливает в малых количествах и только при 5% ее содержания прекращается действие пгалина на крахмал³⁾. Также находит и Гордзевъ, работая у проф. Забьлина.

§ 7. *Опыт с иодоформом.* В 4 колбы прибавлено одинаковое количество кубических сантиметров 1% крахмальнаго клейстера и затем в 3 из них насыпан очень мелко истолченный порошок иодоформа, в количестве равном 1%, 2% и 5% по всему жидкости. Конечно, порошок иодоформа был только суменированъ в жидкости, а не растворен; но отчасти в ней, повидимому, и растворился, ибо жидкость, даже отфильтрованная от иодоформа, всетаки пахла им. 4-я же проба для контроля без иодоформа. После 6 часового стояния произведенный анализ показал в пробах с иодоформом почти вдвое (1,64) меньше сахара, чем в пробѣ 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 всекое действие диастаза на крахмалъ, такъ что не наступало при этом ни разжижения, ни сахарификации крахмала, даже после сучного стояния при t° около 60°C. Вначале я приписывал такое вредное действие сулемы на диастазъ тому обстоятельству, что мой раствор диастаза от сулемы ильсково мутился, почему я могъ думать, что, образовавшись при этомъ муть, увлекала изъ раствора ферментъ, но впоследствии, приготовивъ еще въ другой разъ диастазъ, уже настолько чистый, что от сулемы онъ не давалъ никакой мути (хотя я долженъ сказать, что

этотъ второй диастазъ былъ уже ильсково слабѣе первого, что, по всей вѣроятности, объясняется многократнымъ его осаждениемъ алкоголемъ), я и тогда могъ убедиться, что сулема, въ разведеніи вышесказанномъ, уничтожаетъ его действие на крахмалъ. Вряд ли такое действие сулемы можно объяснить, присущей ей растворамъ, кислой реакціей, ибо незначительная степень кислотности превращенію крахмала не вредитъ, а напротивъ того, даже помогаетъ. А именно Detmer¹⁾ находитъ, что малые количества кислотъ: соляной, фосфорной, молочной (меньше 1:1000 органическихъ кислотъ), а также и угольной, ускоряютъ превращеніе крахмала въ сахаръ. По Брюкке же 1:2,000 HCl не задерживаетъ сахарофицирующей деятельности слюны, но 1:1,000 прекращаетъ эту деятельность. Впрочемъ, опыты Chittenden'a и Cummins'a доказываютъ, что даже 0,001% HCl уже уничтожаетъ действие диастаза. Однако же, даже принявши данныя Chittenden'a и Cummins'a (Jahresberichte d. Thierch. XV), доказывающихъ крайне вредное действие очень малыхъ количествъ свободной HCl на диастазъ, нельзя было бы одною кислотностью сулемы объяснить ее депримирующее вліяніе на диастазъ.

Сулема в данномъ случаѣ также не действовала на диастазъ просто какъ тяжелый металлъ, ибо 1:5,000 средняго уксуснокислаго свинца ильсково не вредно действовало на крахмалъ. Поэтому надо считать такое действие сулемы, этого столь сильнаго агента и противъ организованныхъ ферментовъ, въ данномъ случаѣ за специфическое²⁾.

§ 9) *Солянокислый лимонъ* (средній) былъ испробованъ въ количествахъ 1 и 2%, причѣмъ ни малѣйшаго замедленія или ослабленія въ превращеніи крахмала не замѣчалось, что согласно съ данными Binz'a, по которому хининъ не мѣшаетъ действию слюны на крахмалъ.

§ 10. *Солянистая кислота.* Опытъ, сдѣланный съ перывымъ мною добытымъ диастазомъ, показалъ, что если салциловая кислота прибавлялась въ такомъ количествѣ, что

¹⁾ l. c.

²⁾ Впрочемъ Kjeldahl находитъ, что все тѣ соли тяжелыхъ металловъ, которая имѣютъ кислую реакцію, действуютъ очень вредно на ферментную способность диастаза. Такимъ образомъ Kjeldahl сподвигъ всю объясненіе на депримирующее диастатической ферментъ действие кислоты. (Untersuchungen über Zuckerbildende Fermente, Jahresberichte d. Thierchemie IX, S. 381).

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

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

³⁾ Цитируе, цитировано по учеб. Германа, Химія пищеваренія Р. Мала.

содержание ее равнялось 0,3%, то и после сutchного даже стояния при $t^{\circ} 60^{\circ}\text{C}$. никакого разжижения крахмала и образования сахара не получалось. Къ сожалѣнню, съ этимъ диастазомъ мнѣ не удалось сдѣлать дальнѣйшихъ опытовъ относительно дѣйствія болѣе слабыхъ растворовъ салициловой кислоты, а потому и принужденъ былъ для опредѣленія дѣйствія такихъ слабѣйшихъ дозъ салициловой кислоты пользоваться вновь приготовленнымъ мною диастазомъ, болѣе слабымъ, чѣмъ былъ первый диастазъ и который подучился 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 уничтожала сахарифицирующее дѣйствие этого диастаза; такъ что и после 12 часовъ стоянія при $t^{\circ} 60^{\circ}\text{C}$ не замѣчено никакого разжиженія крахмала, и ни малѣйшаго образования 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 дѣйствие диастаза на крахмалъ, что совпадаетъ съ данными Kjeldahl¹⁾. Однако, чтобы воспринимать дѣйствію слюны на крахмалъ, требуются болѣе значительныя количества салициловой кислоты, какъ это намель Jul. Muller²⁾. Во всякомъ случаѣ, разница между салициловой кислотой и карболовой касательно силы дѣйствія этихъ кислот на диастазъ громадна: карболовая кислота дѣйствуетъ гораздо слабѣ салициловой; что, впрочемъ, и не представляетъ ничего удивительнаго, такъ какъ химическая натура обѣихъ этихъ кислотъ очень различна: салициловая кислота есть оксисалициловая кислота мезорто-ряда, а карболовая — даже и не кислота, а фенолъ, т. е. одноатомный, ароматической свиртъ, хотя и способный давать съ основаніями соедобныя соединенія. На основаніи всего вышесказаннаго несомнѣнно, что, приймавъ въ особенности солянокислый хлещъ, а также и карболовую кислоту, мы можемъ вполне асептически

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

²⁾ L. c., а также Stenborg, Jahresbericht d. Thierchemie, V, S. 293.

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

§ 11. *Опытъ съ пепсиномъ и перевариваніемъ*, подъ вліяніемъ нѣкоторыхъ антисептическихъ средствъ.

Для опытовъ составлялась пищеварительная жидкость, содержащая на 1 литръ 0,5 гтм. пепсина (русскаго) очень сильнаго и 0,2% HCl. Объектомъ перевариванія служилъ вареный фибринъ, добытый изъ собачьей крови, въ количествѣ 0,02 гтм. отжатата и высушеннаго между пропускной бумагой варенаго фибрина на 10 к. с. пищеварительной жидкости. Вареный фибринъ особенно удобно употреблять потому, что, экспериментирова съ нимъ, особенно легко выступаетъ разница растворяющей способности одной соляной кислоты и кислоты+пепсина, 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 ацидъ-альбуминови). Между тѣмъ, какъ въ 0,2% HCl+пепсина онъ растворяется сравнительно легко. Кроме того, такой вареный фибринъ, будучи, какъ выше сказано, отжатъ и высушенъ между пропускной бумагой, удобенъ для отвѣшыванія. Перевариваніе совершалось всегда при $t^{\circ} 35-40^{\circ}\text{C}$. Окончаніе перевариванія опредѣлялось по слѣдующимъ признакамъ: по полному растворенію фибрина, полученію буретовой реакціи на пептонъ въ полученномъ растворѣ, по неосажденности отфильтрованного раствора нейтральными солями щелочныхъ металловъ+уксусная кислота, по непопадучію осадка отъ желтой кровяной соли+уксусная кислота, по отсутствію образования осадка при осторожной нейтрализациі жидкости содой или жидкимъ натромъ до слабо-фиолетоваго окрашиванія чувствительной ситей локмусовой бумаги и кипяченіи. 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, после окончанія опыта, остатокъ неперевареннаго 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 уксусно-кислый свиный давал осадок). Из опыта оказалось, что сулема в количествах 1:200 уничтожала не только действие ферментное пепсина, но и действие HCl (0,2%), так что не происходило при этом и того разбухания фибрина, которое происходит от 0,2% HCl. Это происходило вследствие того, что сулема в сказанной концентрации заставляла фибрин свертываться, сгущиваться. Сулема в количествах 1:1,000 вполне уничтожала переваривание фибрина; весь фибрин, подвергавшийся в течение суток действию пищеварительной жидкости и затем промытого, прокипяченного с дистиллированной водой и вновь высушенного между пропускной бумагой, оказался вполне равным в весу первоначально взятого фибрина. При 1:2,000, сулема только резко замедляет переваривание фибрина, но не уничтожает его. Напр., контрольная проба показывала полное переваривание через 2½ часа, а со сказанной прибавкой сулемы — не раньше как через 10—12 часов (при t° 40° C). Замедление переваривания заметно еще и при 1:4,000 сулемы¹⁾.

§ 13. Салициловая кислота в количествах 1:400 вполне уничтожает переваривание. Напр., взято 0,017 прокипяченного и высушенного между пропускной бумагой фибрина, а после 24-часового действия пищеварительной жидкости в присутствии 1:400 салициловой кислоты, остаток фибрина, промытый, прокипяченный с дистиллированной водой и высушенный прожиманием между пропускной бумагой — 0,016. В разведении же 1:1,000 салициловая кислота только замедляет переваривание приблизительно в 3 раза, но тем не менее оно совершалось вполне. Напр., взято 0,023 гм. прокипяченного фибрина, а после стояния, в течение ночи при комнатной t° с пищеварительной жидкостью, найдено всего 0,003 фибрина в остатке, между тем, как контрольная проба с одной соляной кислотой (без пепсина) за это время едва начала показывать начало разбухания фибрина. Как сказано, рядом других опытов я убедился, что при содержании салициловой кислоты 1:1,000 переваривание фибрина замедляется при-

¹⁾ Также и Max. Marle: Ueber den Einfluss des Quecksilbersublimats auf die Magonverdauung. Jahresbericht d. Tierchemie V, S. 168, нашел, что сулема в малых даже дозах мешает желудочному перевариванию, а в больших — совсем останавливает его.

зительно в 3 раза. Следовательно, мои опыты сходятся, до некоторой степени, с опытами Jul. Müllera²⁾, который нашел, что 1:250 салициловой кислоты прекращает пепсиновое переваривание.

§ 14. Солянокислый хинин в количествах 1% вполне уничтожает переваривание фибрина и даже такое действие производят 2/3% хинина. Меньшей количества хинина только замедляют переваривание. Опишем ход опыта с хинином. Взято 5 проб фибрина по 0,03 прокипяченного с водой и прожатого между пропускной бумагой фибрина. Ко всем пробам прибавлено по 10 к. с. составленной пищеварительной жидкости (1 гм. пепсина и 4 гм. HCl на 1 литр воды) и 2% раствора хинина в таком количестве, что мы имеем в колбах такое содержание хинина: 1%/о, 2/3%/о, 1/2%/о и 1/4%/о, т. е. в 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. хинина раствора + 4 к. с. воды; в 3-ей — 10 к. с. пищеварительной жидкости + 5 к. с. хинина раствора + 5 к. с. воды и в 4-ой — 10 к. с. пищеварительной жидкости + 2,5 к. с. хинина раствора + 7,5 к. с. воды. Пятая проба контрольная содержала на такое же количество взятого фибрина 10 к. с. пищеварительной жидкости + 10 к. с. воды. Все поставлено в баню при t° 40° C. в 11 ч. дня. В 2½ часа проба без хинина почти совершенно растворилась, а в 3½ часа переваривание в ней совершилось вполне, причем получилась совершенно прозрачная жидкость, которая, при посредстве вышеописанных реакций, не давала указания на присутствие в ней белка. Проб с 1% и 2/3% хинина не показали ни малейшего растворения фибрина, вследствие чего, они были оставлены на ночь, но и на другой день не показали никакого изменения фибрина, который только разбух. Проба с 1/4% хинина показала полное растворение фибрина через 6, приблизительно, часов, а проба с 1/2% в виду того, что переваривание фибрина в ней вечером того дня еще не вполне окончилось, была оставлена на ночь, и на другой день фибрин в этой проб оказался вполне растворенным.

§ 15. Антипирин и резорцин. 2% раствор Антипирина сильно замедляет переваривание³⁾. Напр., взято прокипячен-

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

³⁾ А в 3% раствор д. еще и совершенно прекращает.

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

Примчаніе. Въ присутствіи сулеми нельзя дѣлать реакціи съ желтой кровяной солью и уксусной кислотой, ибо и одна сулема даетъ съ желтой солью + уксусная кис. бѣлый, хлопчатый, синѣющій въ послѣдствіи на воздухѣ осадокъ. Въ присутствіи же резорсина нельзя производить буретовую реакцію, 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 произвести въ условіяхъ антисептическихъ, исключаяющихъ 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 влияние 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 распавенія бѣлковыхъ веществъ, появляются въ нихъ (бѣлкахъ) вещества, обладающія ясно выраженными ферментными свойствами, причемъ въ такихъ расщепляющихся бѣлковыхъ веществахъ могутъ появляться диастатической или триптической 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. Невральгическія головныя боли нерѣдко обуславливаются пораженіями носовой полости и потому при существованіи такихъ болѣй изслѣдованіе носа необходимо.

ВІСНИК ЖИТТЯ
Curriculum vitae.

Игнатій Ільдефонсович Мрочковскій, родився в 1856 году, в Минской губерні, происходит от дворян поміщикова этой губерні, католическаго вѣроисповѣданія. Кончил курсъ в Минской губернской классической гимназій. В 1874 году поступилъ в С.-Петербургскій Университетъ на факультетъ Естественныхъ Наукъ, гдѣ и окончилъ курсъ в 1878 году со степенью Кандидата. В томъ же году поступилъ в В. М. Академію, въ которой кончилъ курсъ в 1881 году лекаремъ съ отличіемъ (cum eximia laude). Поступилъ на службу (какъ бывший стипендіатъ) военнымъ врачомъ на Кавказъ. Теперь состоитъ младшимъ врачомъ в 81 пѣхотномъ Апшеронскомъ полку, въ гор. Т. Х. Шуръ, Дагестанской области. Во время пребыванія в Университетѣ и, затѣмъ, состоя на службѣ, напечаталъ нижеслѣдующіе труды.

1. Ueber den Phosphorsäuregehalt im Schafs-Kalbs-und Hundeblyterum. В Centralblatt für die Medicinischen Wissenschaften, за 1878 годъ. Работа произведена подъ руководствомъ проф. Съенцова.
2. Исслѣдованіе объ Абасъ-Туманскихъ минеральныхъ водахъ Тифлисскаго 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 пищевоиъ довольствіи солдатъ 21 пѣхотной дивизіи на Кавказѣ. «Въ Военно-Медицинскомъ журналѣ» за Мартъ 1888 года.