

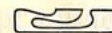
615.36 : 577.15

150
3

Къ вопросу О дѣйствии сычужнаго фермента

на продукты перевариванія
бѣлковыхъ веществъ.

(Экспериментальное изслѣдованіе.)



Диссертація на степень магистра фармаціи
Р. Я. Вайта.

ЮРЬЕВЪ.

Типографія Эд. Бергмана, Рыцарская ул. 17.

1905.

Печатано съ разрѣшенія Медицинскаго факультета Императорскаго Юрьевскаго Университета.

Г. Юрьевъ, 11 Мая 1905 г.

№ 717.

Деканъ Чижъ.

Введение.

Громадные успѣхи во всѣхъ отрасляхъ естествознанія не остались и безъ вліянія на физиологическую химию; хотя въ этой отрасли науки еще по нынѣ не имѣется тѣхъ точныхъ методовъ, которыми изобилуютъ химія неорганическая и органическая, а иногда даже приходится считаться съ эмпиризмомъ; тѣмъ не менѣе и здѣсь замѣчается прогрессъ. Причину въ этомъ отставаніи не трудно найти. Сложные процессы организма, производимые функциональной энергіей разныхъ органовъ, здѣсь часто приходится повторять *in vitro*. Далѣе процвѣтавшій въ первой половинѣ прошлаго столѣтія витализмъ, сводившій всякую функцію организма на такъ называемую жизненную силу, не могъ служить поощряющимъ въ данной области. Чисто механическія воззрѣнія въ естествовѣденіи, слѣдовавшія за витализмомъ и нашедшія свой апогей въ дарвинизмъ, тоже не могутъ благопріятствовать развитію названной науки. Принципъ энергетики, завоевавшій себѣ права гражданства въ физической химіи (теоретической), по всей вѣроятности въ не далекомъ будущемъ займетъ первенствующую

роль и въ физиологической. Принципъ этотъ не новый, мы его ужъ находимъ въ зачаткѣ у древнихъ, далѣе и волю Шопенгауера ¹⁾ при ея болѣе близкомъ знакомствѣ нужно считать тождественной съ названнымъ принципомъ. Заслугою новѣйшихъ изслѣдованій нужно считать приведеніе въ болѣе прикладную форму этого принципа. Virtuозность въ экспериментированіи въ области физиологической химіи, не исключаетъ идейной бѣдности послѣдняго времени въ этой наукѣ. Многіе изъ изслѣдователей, довольствуясь старыми способами, доведеніемъ ихъ до совершенства, вносятъ нѣкоторую ремесленность въ эту науку и даютъ поводъ ко мнѣнію, что и здѣсь для дальнѣйшаго прогресса нужно черпать изъ родниковъ великихъ мыслителей прошлыхъ столѣтій.

Пасынкомъ физиологической химіи являются бѣлковыя вещества, которыя по своей трудности полученія въ видѣ химически чистыхъ индивидовъ, какъ по своему большому молекулярному вѣсу, такъ и по своей нестойкости крайне затрудняютъ изученіе ихъ. За послѣднія 30 лѣтъ многіе изъ химиковъ стали заниматься, какъ расщепленіемъ, такъ и синтезомъ названныхъ тѣлъ. Изъ изслѣдователей въ этой области нужно упомянуть Schutzenberger'a ²⁾, который при нагрѣваніи бѣлка съ избыткомъ Ва (ОН)₂ при 200—250° получилъ: пирроль, углекислоту, щавелевую кислоту, уксусную и осадокъ кристаллическихъ амидооснованій.

1) Schopenhauer. Die Welt als Wille und Vorstellung: der Wille in der Natur.

2) Schutzenberger. Ann. chim. phys. 16. pag. 289.

При болѣе низкой t° 110 — 115° кристаллическаго остатка не получилось. Слѣдующіе кристаллическіе продукты бѣлковъ названнымъ авторомъ были получены:

- I) лейцины C₃H₇NO₂, C₄H₉NO₂, C₆H₁₃NO₂;
 - II) леицины C₄H₇NO₂, C₆H₁₁NO₂;
 - III) гликоиротеиды C₇H₁₄N₂O₄, C₉H₁₈N₂O₄;
 - IV) тиролейцины C₇H₁₁NO₂;
 - V) аспарагиновая кислота C₄H₇NO₄;
 - VI) глутаминовая кислота C₅H₇NO₃;
 - VII) C₉H₁₆N₂O₆;
 - VIII) C₁₀H₁₆N₂O₆, C₁₁H₁₈N₂O₅;
 - IX) C₈H₁₆N₂O₅, C₁₁H₁₈N₂O₆;
 - X) тирозинъ.
- } не постоянные продукты распада.

Главную массу, — 82—84%, составляютъ лейцины и гликопротеины. Гликопротеины суть, по всей вѣроятности, соединенія лейциновъ съ леицинами, которые при болѣе высокой t° съ Ва (ОН)₂ расщепляются. Авторъ полагаетъ, что въ бѣлковой частицѣ не имѣется радикалы съ C₆ и C₉ и, если въ животномъ организмѣ образуется изъ бѣлковъ жиръ, то это не посредствомъ отщепленія, соотвѣтствующей группы отъ бѣлковой частицы, но синтетически, а именно изъ болѣе бѣдныхъ углеродомъ соединеній. Далѣе, по автору подобно крѣпкимъ щелочамъ дѣйствуетъ на бѣлки и концентрированная HCl, которая бѣлковая тѣла растворяетъ съ синимъ цвѣтомъ, переходящимъ при нагрѣваніи въ буроватый; при прибавленіи же къ разлагаемой соляной кислотой смѣси SnCl₂ получаютъ кристаллическія тѣла, при чемъ

жидкость не изменяетъ цвѣта. Hlasiwetz³⁾, Habermann⁴⁾ и Horbaczewski получили изъ казеина глютаминовую кислоту, лейцинъ, гликоколль, NH_3 и H_2S , разлагая его крѣпкою соляною кислотой. E. Schulze и I. Barbieri⁶⁾ изъ бѣлка тыквенныхъ сѣмянъ, кромѣ выше упомянутыхъ кристаллизующихся продуктовъ распада, получили фенила — амидо-пропионовую кислоту; изъ конглютина они получили: лейцинъ, тирозинъ, глютаминовую кислоту и фенила — амидо-пропионовую кислоту. Schutzenberger'a тиролейцинъ, по мнѣнію E. Schulze, есть, по всей вѣроятности, смѣсь или соединеніе амидовалеріановой кислоты съ фенила — амидо-пропионовой. H_2SO_4 дѣйствуетъ на бѣлковыя вещества подобно HCl , только реакція труднѣе доходитъ до конца. W. Kreusler⁷⁾ главными продуктами распада бѣлковыхъ тѣлъ нашель: лейцинъ, тирозинъ, гликоколль, а аспарагиновой кислоты очень мало. Въ концентрированной H_2SO_4 , по Loew'y⁸⁾, бѣлокъ (яичный) разбухаетъ, образуя альбуминмоносульфо кислоту $\text{C}_{72}\text{H}_{107}(\text{SO}_3\text{H})\text{N}_{18}\text{SO}_{22}$, которая въ водѣ и разведенныхъ кислотахъ не растворима, въ щелочахъ же легко растворяется. По этому автору смѣсь, состоящая изъ 1 объема ды-

3) Hlasiwetz. Anzeig. der Wien. Ak. 1872 pag. 114; 1873. № 15.

4) Habermann. Ann. Ch. Pharm. 119 pag. 150.

5) Horbaczewski. Wien. Ak. Sitz. B. 80. III Abth. Juniheft 1879.

6) E. Schulze u. Barbieri. Ber. d. ch. G. 16 pag. 1711.

7) W. Kreusler. Journal f. prakt. Chem. 107 pag. 240.

8) Loew. Journal f. prakt. Chem. 3 pag. 180.

мящейся HNO_3 и 3 объемовъ концентрированной H_2SO_4 , постепенно растворяетъ бѣлокъ на холоду, безъ выдѣленія двуокиси азота; изъ полученнаго такимъ образомъ раствора при разбавленіи его водой выпадаетъ гексонитроальбуминъ-сульфо кислота $\text{C}_{72}\text{H}_{101}(\text{NO}_2)_6\text{SO}_3\text{HN}_{18}\text{SO}_{22}$. Названная кислота представляетъ желтоватый порошокъ, нерастворимый въ водѣ, въ алкоголь и въ разведенныхъ кислотахъ, но щелочи растворяютъ его, именно съ краснымъ цвѣтомъ. Сѣрнистымъ аммоніемъ она переводится въ гекса амидоальбуминсульфо кислоту. Послѣдняя представляетъ коричневый порошокъ, растворимый въ разведенныхъ щелочахъ и концентрированной HCl ; реакція Миллона съ нимъ не получается. Mühlhäuser⁹⁾ при нагрѣваніи съ царской водкой куриного бѣлка и мяса получилъ летучія тѣла (Chlorazol); въ остаткѣ получились хлорсодержащія тѣла, которыя при дальнѣйшемъ нагрѣваніи съ HNO_3 снова отщепляютъ хлоразоль и летучія хлорсодержащія тѣла. Хлоразоль по его мнѣнію есть соединеніе аналогичное съ хлорпикриномъ. Guckelsberger¹⁰⁾ и Schlieper¹¹⁾ при сухой перегонкѣ альбумина, фибрина и казеина, получили въ началѣ перегона жидкость остраго запаха, а потомъ такую съ горькоминдальнымъ запахомъ. Въ перегонѣ обнаружены были: альдегиды уксусной, пропионовой, масляной, муравьиной и бензойной кислотъ, самый эти кислоты; далѣе, кислоты

9) Mühlhäuser. Ann. Ch. Pharm. 90, pag. 170; 101, pag. 171.

10) Guckelsberger. Ann. Ch. Pharm. 64, pag. 39.

11) Schlieper. Ann. Ch. Pharm. 59, pag. 1.

капроновая и валериановая. При перегонкѣ съ хромовой и H_2SO_4 получались: HCN , валеронитрилъ и мало муравьиной кислоты; далѣе уксусная, масляная, валериановая, бензойная, тяжелое масло коричневаго запаха, альдегидъ и кислота пропионовая. Клей тѣже продукты даетъ, но мало пропионоваго альдегида.

Изъ болѣе новыхъ изслѣдователей, касательно расщепленія бѣлковыхъ веществъ крѣпкими щелочами, нужно упомянуть: Hofmeister'a и Bernert'a¹²⁾ Найденную Schulz'емъ аминовалериановую кислоту Bernert не могъ открыть между продуктами распада; остальные продукты расщепленія были этими авторами констатированы, уже раньше Schutzenberg'омъ найденные. Расщепленіемъ бѣлковыхъ веществъ крѣпкой HCl , въ послѣднее время занимались многіе изслѣдователи. Дѣйствіемъ этой кислоты на клей Gonpermann'y удалось получить 8, 4% гликоколлы; E. Fischer'y¹⁴⁾ и Selitrenn'ому только 4% послѣдняго. Spiro¹⁶⁾ указываетъ, что изъ настоящихъ бѣлковъ, какъ то глобулиновъ сыворотки, гемоглобуна, фибриногена, но не казеина, при расщепленіи послѣднихъ соляною кислотою образуется гликоколль. E. Schulze и Gmelin¹⁷⁾ получали при расщепленіи послѣдней кислотой бѣлковъ *a'* аминобутилуксусную кислоту; далѣе Schulze и его учениками

- 12) Bernert. Z. f. Physiol. Ch. 26, 272 (1898).
 13) Gonpermann. Pflügers Arch. 59; 42 (1895).
 14) E. Fischer. Z. f. physiol. Ch. 19; 167 (1894).
 15) Selitrenny. Monatshefte für Ch. 10—908 (1889).
 16) Spiro. Z. f. physiol. Ch. 28; 174 (1899).
 17) Gmelin. Z. f. physiol. Ch. 18; 21 (1893).

было найдено при расщепленіи растительныхъ бѣлковъ, какъ и таковыхъ животнаго происхожденія, аспарагиновая кислота. Лизинъ при расщепленіи впервые былъ открытъ Drechsel'емъ¹⁸⁾ въ послѣдствіи Schulze¹⁹⁾, Hedin'ымъ²⁰⁾ и Kossel'емъ²¹⁾. Д. Лаврову удалось это соединеніе изолировать изъ гистона лейкоцитовъ до 10%.

Подъ названіемъ лизатинина было выдѣлено Drechsel'емъ тѣло, которое въ послѣдствіи Hedin'ымъ²²⁾ идентифицировано, какъ смѣсь лизина и ужъ раньше E. Schulze добытаго аргинина. Аргининъ удалось E. Schulze получить синтетически. По изслѣдованію Kossel'я²³⁾ и его учениковъ было констатировано, что аргининъ принадлежитъ къ главнымъ продуктамъ основнаго характера бѣковаго расщепленія. Гистонъ, по Kossel'ю и Д. Лаврову, очень много содержитъ аргинина; стуринъ по Kossel'ю даже содержитъ его до 60%. Kossel такого мнѣнія, что и аминовалериановая Кислота образуется изъ аргинина. Полученный Kossel'емъ²⁴⁾ изъ протамина гистидинъ, былъ Kutscher'омъ²⁵⁾ Hedin'ымъ²⁶⁾

- 18) Ber. der sächs. Ak. d. der Wiss. 1892. S. 115.
 19) Schulze u. Winterstein Z. f. physiol. Ch. 28, 459 (1899).
 20) Kossel. Zeitschr. f. physiol. Ch. 26, 586 (1899).
 21) Sitzb. d. sächs. Ak. d. Wissensch. 1889. S. 248; 1890.
 22) Hedin. Z. f. physiol. Ch. 21, 155 u. 297 (1895).
 23) Kossel. Z. f. physiol. Ch. 22, 171 (1891) 25; 115 (1898).
 24) Kossel. Z. f. physiol. Ch. 22, 176 (1896).
 25) Kutscher. Z. f. physiol. Ch. 26; 180 (1898).
 26) Hedin. Z. f. physiol. Ch. 22; 191 (1896).

и E. Schulze²⁷⁾ отмѣченъ, какъ обычный продуктъ бѣлковаго расщепленія. Замѣчательно это основаніе тѣмъ, что его соли вправо отклоняютъ плоскость поляризаціи, а само основаніе въ лѣво; три послѣднихъ изъ упомянутыхъ основаній, названы Kossel'емъ гексонбазами (основаніями). Фенилаланинъ E. Schulze²⁸⁾ получилъ при расщепленіи растительныхъ бѣлковъ, но Pick'омъ²⁹⁾ было констатировано, что это соединеніе встрѣчается постоянно между продуктами распада бѣлковыхъ тѣлъ.

Тирозинъ уже давно извѣстенъ какъ продуктъ расщепленія бѣлковыхъ веществъ; впервые, на сколько извѣстно, его открылъ Hinterberger³⁰⁾. Въ послѣднее время Solkowski и Reach³¹⁾, занимавшіеся изученіемъ его, говорятъ, что казеинъ его даетъ до 4,5 %, другіе бѣлки значительно меньше отщепляютъ тирозина; мускульное мясо отщепляетъ 1,66 % яичный бѣлокъ даже 0,58 %; отъ альбуминоидовъ снѣ въ значительномъ количествѣ отщепляется, кератинъ напр. даетъ 4,58 % послѣдняго. Амміакъ, констатированный между продуктами распада бѣлковыхъ веществъ уже старыми авторами, былъ въ послѣднее время Hofmeister'омъ и Hansen'омъ³²⁾ коли-

27) E. Schulze u. Winterstein. Z. f. physiol. Ch. 28; 459 (1899).

28) E. Schulze u. Borchard Z. f. physiol. Ch. 9; 63 (1884).

29) Pick. Z. f. physiol. Ch. 28; 219 (1899).

30) Hinterberger. Ann. Ch. Pharm. 71; 70 (1849).

31) Reach. Virchows Arch. 158; 288 (1899).

32) Hansen. Z. f. physiol. Ch. 27; 95 (1899); 29; 136 (1900).

чественно опредѣленъ въ бѣлковыхъ тѣлахъ. Авторы нашли, что казеинъ 13,37 % своего азота отщепляетъ ввидѣ NH_3 , альбуминъ сыворотки 0,34 % и клей 1,61 %. Изъ этого нужно вывести, что названныя тѣла различнаго строенія.

Щавелевая кислота была получена R. Cohn'омъ³³⁾ въ очень маломъ количествѣ при разложеніи бѣлковъ крѣпкой HCl.

Углекислота, замѣченная уже старыми авторами между продуктами распада бѣлковыхъ тѣлъ, получена въ послѣднее время Drechsler'емъ³⁴⁾ изъ аргинина и гуанидина. Тіомолочная кислота получена Bauman'омъ и Suter'омъ³⁵⁾ изъ кератина. Цистинъ (дисульфидъ аминомолочной кислоты) былъ полученъ Emmerling'омъ³⁶⁾ при расщепленіи роговыхъ стружекъ; изъ настоящихъ бѣлковъ его пока получить не удалось. Müller'y³⁷⁾ впервые удалось разложеніемъ муциновъ и мукоидовъ получить глюкозаминъ, по всей вѣроятности онъ же образуется и при разложеніи настоящихъ бѣлковъ. При триптическомъ перевариваніи, ведущимъ тоже къ глубокимъ продуктамъ распада, были замѣчены продукты: лейцинъ (W. Kühne)³⁸⁾, аспарагиновая кислота (Sal-

33) R. Cohn. Z. f. physiol. Ch. 22; 153 (1896) и 26; 395 (1899).

34) Drechsler. Sitzbr. d. Sächs. Ak. d. Wiss. (1889).

35) F. Suter. Z. f. physiol. Ch. 20; 564 (1895).

36) Emmerling. Verh. d. G. d. Naturforsch. u. Aerzte (1894) S. 391.

37) F. Müller. Sitzbr. d. G. z. Bef. der g. Naturwiss. z. Marburg (1896) S. 53.

38) W. Kühne. Virch. Arch. 39; 130 (1867).

kowski³⁹⁾ и Radziejewski), глютаминовая кислота (Knieriem'омъ)⁴⁰⁾, аргининъ (Kutscher)⁴¹⁾, лизинъ (Hedin)⁴²⁾; амміакъ (Hirschler'омъ)⁴³⁾. Kütz'емъ при панкреатическомъ перевариваніи фибрина былъ открытъ цистинъ, однако Baumann и Suter⁴⁴⁾ послѣдняго не могли найти.

Разсмотрѣвъ вышеупомянутые продукты разложенія бѣлковыхъ веществъ, можно сказать, что прямымъ отщепленіемъ отъ бѣлковой частицы отщепившимися можно принять слѣдующіе продукты: аминокусусную кислоту, аминокaproновую, аминокантарную, аминоклутаровую, фениламинопропіоновую, оксифениламинокaproновую, гистидинъ, гуанидинаминовалериановую кислоту, глюкозаминъ, цистинъ и другіе, сѣру содержащія, тѣла.

Итакъ, какъ показываетъ вышеприведенный краткій обзоръ продуктовъ, возникающихъ при глубокомъ расщепленіи бѣлковыхъ веществъ, эти вещества являются химическими тѣлами, молекула которыхъ представляется составленною изъ многочисленныхъ соединенийъ различныхъ химическихъ группъ.

Прежде чѣмъ осматривать измѣненія бѣлковыхъ веществъ подъ вліяніемъ слабыхъ кислотъ и ферментовъ, не лишне остановиться вкратцѣ на химическомъ строеніи нативныхъ бѣлковъ.

39) Radziejewsky. Br. d. d. ch. G. 7, II 1050 (1874).

40) Knieriem. Zeitschr. f. Biol. 11; 199 (1875).

41) Kutscher. Z. f. physiol. Ch. 25; 195 (1898).

42) Hedin. Arch. f. Anat. u. Phys. 1891 (273).

43) Hirschler. Z. f. physiol. Ch. 1886.

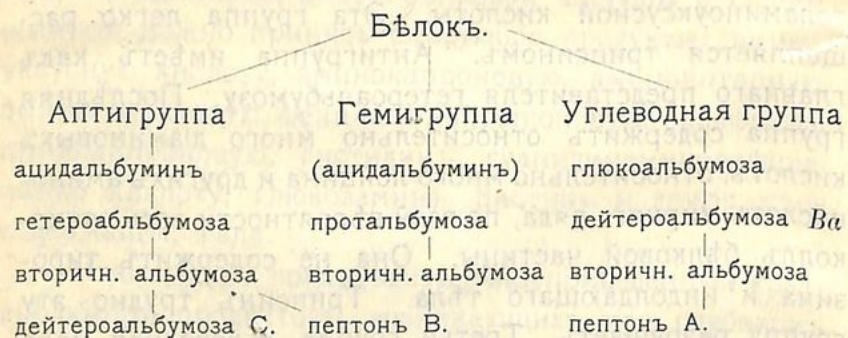
44) F. Suter. Z. f. physiol. Ch. 20, 564 (1895).

Hofmeister и его ученикъ Pick⁴⁵⁾ принимаютъ въ бѣлковой частицѣ 3 различныхъ группы: геми, анти и углеводную группу. Геми группа, къ которой протальбумоза принадлежитъ, содержитъ мало діамино', но относительно много моноаминокислотъ ароматическаго ряда, мало лейцина, не содержитъ гликоколлы и мало другихъ аминокислотъ жирнаго ряда. Она содержитъ относительно много тирозина и скатоламиноуксусной кислоты. Эта группа легко расщепляется трипсиномъ. Антигруппа имѣетъ какъ главнаго представителя гетероальбумозу. Послѣдняя группа содержитъ относительно много діаминовыхъ кислотъ, относительно много лейцина и другихъ аминокислотъ жирнаго ряда, по всей вѣроятности весь гликоколлъ бѣлковой частицы. Она не содержитъ тирозина и индолдающаго тѣла. Трипсинъ трудно эту группу разрушаетъ. Третья группа, углеводная мало пока извѣстна; извѣстно только, что эта группа отличается низкимъ содержаніемъ азота и углерода, равно какъ и высокимъ содержаніемъ кислорода.

При пептическомъ перевариваніи эти группы нативнаго бѣлка даютъ разные продукты гидролиза; въ началѣ образуется ацидальбуминъ, далѣе такъ называемыя первичныя альбумозы, — тѣла еще близко стоящія къ нативному бѣлку; при болѣе продолжительномъ дѣйствіи фермента первичныя альбумозы переходятъ во вторичныя; послѣднія далѣе въ амфопептонъ и отчасти въ кристаллическіе продукты, Образование кристаллическихъ продуктовъ при пептиче-

45) Z. f. physiol. Ch. 28; 219 (1899).

скомъ перевариваніи было опровергнуто, но новѣйшія изслѣдованія показали, что таковыя могутъ образоваться. Проф. Д. Лавровымъ⁴⁶⁾ при пептическомъ перевариваніи получены продукты перевариванія, относящіеся къ группѣ моноаминовыхъ кислотъ. Гидролизъ бѣлковъ при пептическомъ перевариваніи можно систематически (по Hofmeister'у изобразить.



Амфопептонъ состоитъ изъ нѣсколькихъ тѣлъ, какъ это Д. Лавровъ показалъ. Амфопетномъ называется смѣсь продуктовъ перевариванія не высаливающихся $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, но сохраняющихъ еще до известной степени характеръ бѣлковыхъ тѣлъ, распадающихся при дальнѣйшемъ перевариваніи на амидокислоты и базы.

Триптическое перевариваніе гораздо скорѣе ведетъ къ продуктамъ распада кристаллическаго характера, хотя и здѣсь и при очень долгомъ перевариваніи вся

46) D. Lawrow. Zeitsch. f. phys. Ch. В. 43, Н. 5.

47) Д. Лавровъ. Къ вопросу о пептическ. и триптическ. перев. бѣлков. веществъ 1897.

альбумоза трудно исчезаетъ. По Pick'у⁴⁸⁾ гетероальбумозу не удастся совершенно перевести трипсиномъ въ амидокислоты, но протальбумоза, образующаяся изъ гемигруппы, легко переводится по этому автору въ амидокислоты. Вопросъ о конечныхъ продуктахъ разложенія при пептическомъ перевариваніи, по малому количеству данныхъ не можетъ считаться пока рѣшеннымъ.

По мнѣнію А. Данилевскаго, много работавшаго надъ вопросамъ о пептическомъ и триптическомъ перевариваніи бѣлковыхъ веществъ, эти послѣднія подъ вліяніемъ пепсина или трипсина перетерпѣваютъ рядъ послѣдовательныхъ расщепленій (гидратическаго характера), не распадаясь ни на антигѣла, ни на тѣла гемигруппы.

По Kossel'ю бѣлковая частица не содержитъ ни анти, ни гемигруппы.

Итакъ, относительно продуктовъ пептическаго перевариванія бѣлковыхъ тѣлъ можно отмѣтить, что иные изъ нихъ являются веществами стоящими по своимъ главнѣйшимъ физиолого-химическимъ свойствамъ болѣе или менѣе близко къ нативному бѣлку, — таковыя напр.: гетероальбумоза и протальбумоза. Другіе продукты к. напр. иные продукты, входящіе въ составъ амфопептона являются веществами, стоящими по своимъ главнымъ физиолого-химическимъ свойствамъ довольно отдаленно отъ нативныхъ бѣлковыхъ веществъ. Наконецъ иные, какъ напр. моноаминокислоты и гексонбазы являются продуктами глубокаго распада бѣл-

48) Pick. Z. f. phys. Ch. 28, 219 (1899).

ковой частицы, совершенно утратившими свойства бѣлковыхъ веществъ,

Слабые кислоты могутъ произвести дѣйствіе подобное ферментамъ. Въ своихъ послѣднихъ изслѣдованіяхъ проф. Д. Лавровъ⁴⁹⁾ показалъ, что HCl бѣлковыя тѣла до образованія амидокислотъ расщепляетъ.

Касательно синтеза бѣлковыхъ тѣлъ, въ послѣднее время приложено много труда, тѣмъ не менѣе большаго успѣха въ этой области еще не отмѣчено. Первымъ занимавшимся этимъ вопросамъ, нужно отмѣтить парижскаго аптекаря Grimaux⁵⁰⁾, который при сплавленіи ангидрида аспарагиновой кислоты съ мочевиною получилъ растворимое въ водѣ тѣло альбумознаго, по мнѣнію автора, характера. Schutzenberger⁵¹⁾ соединилъ аминокислоты (лейцины, лейцеины) съ мочевиною нагрѣваніемъ ихъ съ ангидридомъ фосфорной кислоты. Lilienfeld⁵²⁾ дѣйствіемъ KHSO_4 , формалдегида и другихъ конденсаторовъ на эфиры аминокислотъ получилъ протеиноподобныя тѣла. Balliano и Frasciatti⁵³⁾ нагрѣваніемъ гликоколла съ глицериномъ получили ровидный ангидридъ. Полученныя этими авторами

49) D. Lawrow. Z. f. physiol. Ch. B. 43, N. 5.

50) Grimaux. Comp. rend. 93, pag. 77; Bull. soc. chim. 98, pag. 649.

51) Schutzenberger. Rech. sur les synth. des matiѣre alb. et proteiq. compt. r. 106, 14077 (1888); 112; 118 (1891).

52) Lilienfeld. Dubois Arch. 1894 S. 383 и 555.

53) Balliano и Frasciatti. Btr. d. d. ch. G. 33 (1900) 2323, 34 (1901), 1501.

тѣла представляютъ аморфныя продукты, сходства которыхъ съ протеиновыми тѣлами нужно считать сомнительнымъ. E. Fischer'y⁵⁴⁾ удалось соединить молекулы аминокислотъ въ ангидридной формѣ. Эти соединенія были имъ названы полипептидами. Исходнымъ матеріаломъ ему служилъ двойной ангидридъ аминокусусной кислоты, названной имъ глицинангидридомъ. При кипяченіи его съ HCl, или при взбалтываніи щелочами происходитъ разрываніе пиперазиноваго кольца, при этомъ образуется монохлоргидратъ аминокислоты. Это соединеніе представляетъ, моноангидридъ гликоколла или глицина, радикаль который названъ Fischer'омъ глицилемъ (Glycyl). Свободная кислота, какъ и ея эфиры отличаются легко реагирующей способностью NH_2 группы, замѣщеніемъ водорода которою, съ помощью различныхъ аминокислотъ, получаютъ различныя сложныя соединенія, — полипептиды. По всей вѣроятности удастся получить синтетическіе продукты, близко стоящіе къ естественнымъ пептонамъ.

54) E. Fischer. Ber. d. d. Ch. G. 34 (1901) 2868; 35 (1902) 1095; 36 (1903) 2094, 2106, 2982; 37 (1904) 3076; 38 (1905) 605.

Сычужный ферментъ.

Взглядъ на каталитическое дѣйствіе и природу ферментовъ не разъ подвергался различнымъ истолкованіямъ. Установленное великимъ французскимъ фармацевтомъ Pasteur'омъ подраздѣленіе ферментовъ на организованные и неорганизованные, не можетъ больше удержаться, послѣ выдѣленія изъ дрожжей зимазы (Buchner'омъ⁵⁵) и нужно полагать, что въ не далекомъ будущемъ придется отмѣтить тоже самое для *mucoderma acetii*. Нѣсколько особнякомъ отъ всѣхъ ферментовъ стоятъ, по своему дѣйствію, тромбинъ и химозинъ. Прежде чѣмъ отънѣти физиолого-химическое дѣйствіе послѣдняго, не излишне изложить вкратцѣ его исторію. Примѣненіе и дѣйствіе сычужнаго фермента извѣстно было древнимъ культурнымъ народамъ. Дѣйствіе его было использовано въ экономическомъ отношеніи, т. е. для приготовления сыра и ему подобныхъ продуктовъ. Первая указанія мы имѣемъ въ ветхомъ завѣтѣ⁵⁶) гдѣ говорится о приготовленіи сыра изъ молока. Далѣе

55) Buchner. Ber. d. d. ch. G. 30 и 31.

56) 1. Sam. 17, 18 переводъ Лютера.

у Гомера въ Одиссеѣ описывается (стр. 246), какъ циклопъ Полифемъ занимается приготовленіемъ сыра изъ овечьяго молока. Великій философъ и естествоиспытатель древности Аристотель въ „*De animalibus historiae libri decem*“, liber III, cap. 21 трактуетъ этотъ вопросъ. По его мнѣнію дѣйствіе сычужнаго фермента впервые было констатировано въ сычугѣ убитыхъ телятъ, которые незадолго передъ смертью были кормлены молокомъ. Теокрытъ сиракузскій въ своей „*είδύλλια XXV*“ говоритъ, что Геркулесъ при осматриваніи стада Авгія восклицалъ „*Ἄλλος ἀμόλγιον, ἄλλος τρέφε πίονα τέρον*“. За 50 лѣтъ до р. Христа Варр⁵⁷). *De re rustica*“, liber II, cap. 11 описываетъ приготовленіе сыра. Болѣе подробно объ этомъ говоритъ Колумелла (по Peters'y) „*De re rustica*“, liber VII, cap. VIII. Диоскоридъ, отецъ физиологической химіи, какъ видно изъ его замѣтокъ, имѣлъ очень скудныя свѣдѣнія объ сычужномъ ферментѣ, хотя онъ въ своихъ „*περί ὕλης ἰατρικῆς*“, liber II, cap. 77 (по Peters'y), указываетъ на фиговый сычужный ферментъ. Сто лѣтъ спустя по указу императора Константина V была издана книга „*Geoponicorum sive de re rustica*“ (по Peters'y) въ которой указывается на примѣненіе сычужнаго фермента при приготовленіи сыра. 50 лѣтъ спустя послѣ этого, Петръ Кресценцій въ своемъ сочиненіи „*Opus ruralium commodorum*“ указываетъ, что у молочниковъ имѣется вещество, которое они прибавляютъ къ молоку при приготовленіи сыра. Въ 16-омъ вѣкѣ Conrad Heres-

57) Peters. Das Lab und labähnliche Fermente, 1894.

bach (по Peters'y) написал книгу „Rei rustica libri quattuor“, Köln 1571. Все что онъ отмѣчаетъ, имѣется у болѣе старыхъ авторовъ, писавшихъ по этому вопросу. Conrad Gessner почти одновременно съ послѣднимъ авторомъ въ своемъ сочиненіи „Libellus de lacte et operibus lactariis philologus pariter ac medicus“ дѣлаетъ интересныя замѣтки объ сычужномъ ферментѣ. Изъ болѣе древнихъ сочиненій нужно упомянуть еще пастора Колера сочиненіе „Oeconomia ruralis et domestica“ по (Peters'y), написанный на нѣмецкомъ языкѣ. Авторъ въ своемъ сочиненіи даетъ точныя указанія для приготовления сыра.

Послѣ долгаго молчанія касательно вопроса о сычужномъ ферментѣ, Berzelius, занимавшійся изученіемъ свертыванія молока, впервые доказалъ что свертываніе молока не зависитъ отъ присутствія молочнаго сахара. Soxlet⁵⁸⁾ указалъ, что слизистая оболочка желудка, какъ при кислой, такъ и при щелочной реакціи свертываетъ молоко. Hammarsten⁵⁹⁾ и A. Schmidt⁶⁰⁾ доказали, что это свертываніе обусловливается ферментомъ; далѣе они доказали, что и растворы казеина свободные отъ молочнаго сахара, свертываются этимъ ферментомъ и, что отдѣлившаяся сыворотка способна свертывать молоко. Hammarsten'у, которому въ 1872 году удалось

58) Soxlet. Z. f. pr. Ch. VI, I.

59) Hammarsten. Maly's Jhr., B. 1872, 118; 1874, 135; 1877, 158.

60) A. Schmidt. Beiträge zur Kenntniss der Milch. Dorpat 1871.

этотъ ферментъ въ болѣе или менѣе чистомъ видѣ получить, характеризуетъ его слѣдующимъ образомъ (Lehrbuch der physiol. Chemie). Химозинъ находится въ желудкѣ челоуѣка и высшихъ животныхъ въ видѣ зимогена, изъ котораго онъ дѣйствіемъ соляной кислоты переходитъ въ химозинъ. Самый чистый химозинъ, полученный этимъ авторомъ, даетъ слѣдующія реакціи: ксантопротеиновая = 0, водный растворъ этого фермента не коагулируетъ при кипяченіи, не осаждается алкогелемъ, азотной кислотой, таниномъ, іодомъ и нейтральнымъ уксуснокислымъ свинцомъ; основная уксусносвинцовая соль его осаждаетъ. При температурѣ 37—40°, будучи взятъ въ растворѣ, содержащемъ 0,3—0,5% HCl, онъ постепенно, а именно втеченіи 24—28 часовъ, разрушается.

Свое свертывающее дѣйствіе онъ обнаруживаетъ на молоко и кальціевыя соли содержащій казеинъ. При свертываніи происходитъ, по Hammarsten'у расщепленіе казеина, параказеинъ и бѣлковыя тѣла альбумознаго характера. Кальціевыя соли остаются въ осадкѣ при параказеинѣ, сыворотка этихъ солей не содержитъ. Мнѣніе, что казеинъ при дѣйствіи сычужнаго фермента расщепляется на два тѣла, нельзя считать доказаннымъ, хотя большинство изслѣдователей придерживается его. Peters'y⁶¹⁾ удалось получить свертываніе бѣлковъ, остающихся въ молочной сывороткѣ. G. Tamann⁶²⁾ въ своихъ изслѣдованіяхъ надъ ферментами указываетъ, что вообще реакціи ферментовъ

61) Peters. Das Lab und labähnl. Fermente 1894.

62) G. Tamann. Z. f. physiol. Ch. XVI, 1892.

не полны и что эта неполнота не обуславливается химическимъ равновѣсіемъ реакціи. Hill⁶³⁾ констатировалъ обратимую реакцію ферментовъ на глюкозѣ, изъ растворовъ которой онъ посредствомъ мальтазы получилъ мальтозу и ревертозу.

Emmerling⁶⁴⁾ указываетъ на способность липазъ производить синтезы: ему удалось получить изъ миндальнокислаго нитрилглюкозида и глюкозы, посредствомъ мальтазы дрожжей, амигдалинъ.

Ученіе о единствѣ пепсина и сычужнаго фермента, внесенное И. Павловымъ⁶⁵⁾ и его учениками въ физиологическую химию, нашло возраженія со стороны J. Ванга. Школѣ Павлова (Парашуку) не удалось эти оба фермента раздѣлить; при уничтоженіи одного, уничтожилось и другое, т. е. при уничтоженіи свѣртывающего дѣйствія, уничтожилось и протеолитическое. Ivar Bang⁶⁶⁾, несогласяющійся со мнѣніемъ И. Павлова, указываетъ что свойства химозина не у всѣхъ животныхъ одинаковы; далѣе онъ указываетъ, что не содержащій пепсина химозинъ можно получить, а именно, нагрѣваніемъ паракхимозина. Далѣе онъ говоритъ что ему удалось получить пепсинъ изъ тельячяго сыгуча, который не свѣртывалъ молока. Хотя самые чистые, имѣющіеся въ торговлѣ препараты пепсина обнаруживаютъ какъ

63) Hill. Ber. d. d. ch. G. 34.

64) Emmerling. Ber. d. d. ch. G. 34.

65) Pawlow и Parastzchuk. Z. f. physiol. Ch. 42, pag. 415.

66) Ivar Bang. Z. f. physiol. Ch. 43, pag. 358 (1904).

протеолитическое, такъ и свѣртывающее дѣйствіе, тѣмъ не менѣе вопросъ объ единствѣ этихъ ферментовъ не вполне выясненъ.

Важный фактъ, впервые констатированный проф. А. Данилевскимъ касательно различныхъ препаратовъ сычужнаго фермента, а именно способность такихъ препаратовъ образовывать осадки въ растворахъ пептона Witte, положилъ начало ряду изслѣдованій дѣйствія этого фермента на продукты перевариванія бѣлковыхъ веществъ. Фактъ, констатированный А. Данилевскимъ, былъ этимъ авторомъ истолкованъ, какъ обратимая реакція этого фермента т. е., что сычужный ферментъ въ состояніи превратить продукты перевариванія бѣлковыхъ веществъ въ нативный бѣлокъ (см. Завьяловъ, l. c.).

Окуневъ⁶⁷⁾ изслѣдовалъ болѣе подробно дѣйствіе этого фермента на продукты перевариванія разныхъ бѣлковъ к. напр. альбумина, фибрина, миозина, миостромина и казеина. По этому автору, продукты получаемые съ сычужнымъ ферментомъ, при дѣйствіи его на продукты перевариванія, состоятъ изъ альбуминовъ и отчасти альбумозъ ($\frac{1}{3}$). Эти продукты; получаемые въ видѣ осадковъ, не растворимы въ водѣ, слабыхъ щелочахъ и кислотахъ. 1% растворъ ѣдкой щелочи растворяетъ ихъ легко. Кислые и щелочные растворы ихъ, при нейтрализаціи, осаждаются. Нейтрализованный щелочной растворъ при

67) Окуневъ. Роль сычуж. фермента при ассимиляціонныхъ процессахъ организма, — СПб. 1895; лабор. проф. А. Данилевскаго.

кипячені и слабомъ подкисленіи уксусной кислотой даетъ свертывающіеся хлопья. Горячій 50—60 % спиртъ извлекаетъ изъ такихъ осадковъ $\frac{1}{3}$ часть бѣлковъ; при охлажденіи спиртовыхъ растворовъ извлеченныя бѣлковыя вещества выпадаютъ. Въ своемъ заключеніи авторъ дѣлаетъ слѣдующіе выводы: „Исчезновеніе пептоновъ изъ пищеварительныхъ путей и отсутствіе ихъ въ крови и лимфатическихъ сосудахъ обуславливается обратнымъ превращеніемъ ихъ въ альбуминъ (= альбуминизація). Альбуминизація есть одно изъ біологическихъ отправленій сычужнаго бродила. По своей химической природѣ альбуминизація состоитъ въ дегидратаціи пептона. Количественное обратное превращеніе пептона въ альбуминъ достигаетъ до 50 % взятаго пептона.

Оба отправленія сычужнаго бродила, — альбуминизація пептона и свертываніе молока, — ослабляются и усиливаются параллельно, въ зависимости отъ однихъ и тѣхъ же реагентовъ. Хлористый натрій принадлежитъ къ могущественнымъ ускорителямъ альбуминизаціи. Желчь и сыворотка крови не препятствуютъ альбуминизаціи. Способность пептона къ альбуминизаціи падаетъ при очищеніи пептона отъ солей кальція и магнія.

Продолжительная діализація пептона ослабляетъ въ значительной степени его способность къ альбуминизаціи. Сычужный ферментъ не разрушается при содержаніи его въ 2 % растворѣ HCl и Na_2CO_3 даже въ теченіе 7 сутокъ. Альбуминизація возможна въ присутствіи большихъ количествъ HCl (2 %)“.

Изъ показаній автора видно, что его осадки не составляли однороднаго тѣла какъ это и онъ самъ

замѣчаетъ; растворимая въ водѣ часть осадковъ, была по всей вѣроятности механическою примѣсью послѣднихъ. Авторъ не указываетъ при опытахъ съ пробами, содержащими сычужн. ферментъ и 2 % HCl resp. 2 % Na_2CO_3 , были ли они произведены въ чистой водѣ или въ растворахъ альбумозъ; если это при послѣднемъ обстоятельстве происходило, то нужно полагать, что альбумозы, всю или большую часть кислоты resp. щелочи связывали, и таковыхъ въ опытныхъ растворахъ мало или совсѣмъ въ свободномъ состояніи въ выше указанныхъ значительныхъ количествахъ не находилось. Тоже самое нужно сказать отъ альбуминизаціи при 2 % содержаніи HCl.

Д. Лавровъ⁶⁸⁾ производившій опыты съ различными бѣлками не интензивнаго и интензивнаго перевариванія, впервые указываетъ, что продукты перевариванія, невысаливающіеся съ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, не реагируютъ съ сычужнымъ ферментомъ. Авторъ въ полученныхъ сычужнымъ ферментомъ осадкахъ видитъ альбуминизацію денатурированныхъ бѣлковъ.

Завьяловъ⁶⁹⁾ изслѣдовалъ дѣйствіе сычужнаго фермента на пептонъ Witte, на продукты пептического перевариванія альбумина, казеина, миозина и въ одномъ отдѣльномъ случаѣ на разные представители альбумозъ, полученные имъ изъ пептона Witte, кромѣ того еще на амфо и антипептонъ. При дѣйствіи фермента на болѣе концентрированные

68) Д. Лавровъ. Къ вопросу о химизмѣ пептического и триптического перевариванія бѣлковыхъ веществъ. 1897.

69) Завьяловъ. Къ теоріи бѣлковаго пищеваренія. Юрьевъ 1899.

растворы пептона Witte, авторъ получилъ студни; менѣе концентрированные давали осадки, хлопьевидные. Осадки по мнѣнію автора носятъ характеръ гемуинныхъ бѣлковъ, глобулиноподобныхъ. Авторъ далѣе пытался установить optimum кислотности для этой реакціи и пришелъ при своихъ опытахъ къ заключенію, что 0,91 % HCl. совсѣмъ прекращаетъ дѣйствіе фермента, а optimum для дѣйствія фермента есть 0,548 % содержаніе соляной кислоты. Авторъ при своихъ опытахъ упустилъ изъ виду связывающую способность альбумозъ по отношенію къ кислотамъ и щелочамъ. Изъ данныхъ опытовъ автора можно заключить, что авторъ при прибавленіи 0,548 % HCl. таковой въ свободномъ видѣ не имѣлъ. Авторъ при опытахъ XI и XII хотѣлъ установить границы концентраціи пептона, при которой сычужный ферментъ еще дѣйствителенъ, и нашелъ, что с. 8 %-ные растворы уже не способны реагировать съ сычужнымъ ферментомъ. Отрицательные результаты здѣсь нужно отнести на относительно высокое содержаніе свободной кислоты въ данныхъ растворахъ. Въ опытѣ XIX авторъ пользовался альбумозами, амфо и антипептономъ. При дѣйствіи сычужнаго фермента на эти продукты перевариванія онъ получилъ слѣдующіе результаты.

Гетероальбумоза	дала	=	26,59 %	осадка
Протальбумоза	"	=	10,09 %	"
Дейтероальбумоза	"	=	2,85 %	"
Амфопептонъ	"	=	0,92 %	"
Антипептонъ	"	=	0,00 %	"

Авторъ дѣйствовалъ слѣдующимъ образомъ: сухія альбумозы и пептоны были растворены въ 0,5 % HCl.

Къ 10 куб. с. такого раствора прибавлялось 5 куб. с. сычужнаго фермента съ содержаніемъ 19,21 % растворимыхъ солей, изъ которыхъ 18,52 % падало на NaCl. При такихъ опытахъ съ гетероальбумозою полученіе осадка можно отнести и на простое высаливаніе: данная альбумоза частично высаливается при такомъ содержаніи NaCl и кислоты, каковыя имѣлись въ этихъ опытахъ. Протальбумоза автора содержала, какъ видно изъ ея приготовленія, дейтероальбумозу (дейтероальбумозу А по Hofmeister'y), которая энергично реагируетъ съ сычужнымъ ферментомъ; кромѣ этого и гетероальбумозу, которая, какъ извѣстно даже при 7 суточномъ деализированіи растворовъ, содержащихъ смѣсь прото и гетероальбумозы, не удается совершенно отдѣлать. Далѣе авторъ ⁷⁰⁾ сообщаетъ, что кромѣ нерастворимыхъ пластеиновъ, — какъ авторъ называетъ осадки, получаемые при дѣйствіи сычужнаго фермента на растворы продуктовъ перевариванія бѣлковыхъ веществъ, — получаютъ растворимые пластеины, подобные растворимымъ въ солевыхъ растворахъ свертывающимся бѣлкамъ. Реакція осажденія пластеиновъ обуславливается по автору благодаря содержанію кальціевыхъ солей въ испытуемыхъ сычужн. ферментомъ растворахъ.

Д. Куревъ ⁷¹⁾ дѣйствіемъ сычужнаго фермента на растворы пептона Witte и дейтероальбумозъ получилъ обильные осадки, по его мнѣнію схожіе съ плас-

70) Centralbl. für Physiol. Bd. XVI. — № 22; 1902.

71) D. Kurajeff. Beitr. z. ch. Phys. u. Path. v. Hofmeister 1902, B. II, H. 7—9.

теинами Завьялова. Послѣдніе растворялись въ слабыхъ кислотахъ и щелочахъ, кромѣ того дали при нагрѣваніи щелочами студенистыя тѣла. Авторъ получалъ свои альбумозы по Pick'у (А. Б.). Съ 12,5 % гетероальбумозой авторъ не получалъ осадка. Протальбумоза 10,5 %, на половину разбавленная водой, тоже не реагировала. А и В альбумозы (по Р і с к у) давали объемистые осадки. Съ протоказеозой авторъ не получалъ осадка, или таковой образовался въ минимальномъ количествѣ. Дейтероказеоза дала обильный осадокъ. Далѣе этимъ авторомъ⁷²⁾ былъ подвергнутъ кристаллическій яичный альбуминъ 3 дневному перевариванію съ пепсиномъ Gr ü b l e r. Изъ перевареннаго альбумина полученъ сычужнымъ ферментомъ пластеинъ. Другая порція альбумина подвергалась 18 дневному перевариванію; послѣ этого изъ послѣдней тоже полученъ пластеинъ. Количество полученнаго пластеина одинаково, какъ изъ 3 дневнаго такъ и 18 дневнаго продукта перевариванія. Пластеинъ 3 дневнаго перевариванія названъ авторамъ пластеиномъ А, 18 дневнаго перевариванія пластеиномъ В. Высушенные оба пластеина при 105—115° до постояннаго вѣса дали при элементарномъ анализѣ слѣдующія величины:

Пластеинъ А.

$$C = 58,77 \%$$

$$H = 7,37 \%$$

$$N = 14,44 \%$$

72) D. Kurajeff. Beitr. z. ch. Phys. u Path. v. Hofmeister 1904, p. 476.

Пластеинъ В.

$$C = 58,92 \%$$

$$H = 7,22 \%$$

$$N = 14,31 \%$$

Авторъ производилъ съ фильтратомъ 4 дневно-перевареннаго пластеина слѣдующіе опыты: названный фильтратъ былъ поставленъ съ слизистой обложкой желудка только что убитой собаки на 3 часа при температурѣ 40°, послѣ этого смѣсь прокипячена. При этомъ опытѣ не было констатировано регенераціи бѣлка. При повторномъ опытѣ была таковая обнаружена въ незначительной степени. Опыты произведенные съ слизистой оболочкой кишечника показали незначительную регенерацію Д. Кураевъ въ образованіи осадковъ въ растворахъ дейтероальбумозъ сычужнымъ ферментомъ видитъ коагуляцію; далѣе авторъ придерживается мнѣнія, что осадки образуются изъ особенной альбумозы, такъ какъ послѣ выдѣленія осадка, альбумозы не теряютъ характеръ дейтероальбумозъ и онъ получается въ одинаковомъ количествѣ изъ продуктовъ не одинаково долго переваренныхъ. Антиальбумидъ Kühne и Chittenden'a⁷³⁾ по мнѣнію автора показываетъ большую схожесть съ пластеинами и коагулёзами.

М. Лаврова и С. Салазкинъ⁷⁴⁾ работали

73) W. Kühne и R. H. Chittenden. Zeitsch. f. Biol. 19, 159 (1883).

74) M. Lawrow и I. Salaskin. Z. f. physiol. Ch. (1902) pag. 277.

съ пептономъ Witte и съ альбумозами, полученными изъ него по способу Risk'a. Авторы нашли, что естественный желудочный и кишечный соки (получ. по способу И. Павлова) даютъ осадки съ альбумозами и съ пептономъ Witte. Съ пептономъ Witte были таковыя получены и съ сычужнымъ ферментомъ. Авторами констатировано, что такіе осадки можно получить повторно: послѣ отдѣленія пластеиннаго осадка и нейтрализаціи жидкости, эта послѣдняя была сгущена, къ сгущенной жидкости прибавлялись HCl и желудочный сокъ. Такимъ образомъ были 4 кратно послѣдовательно получено авторами осадки. Фильтратъ, не реагирующій уже больше съ желудочнымъ сокомъ, содержалъ всѣ фракціи альбумозъ. Полученныя по Risk'у альбумозы дали слѣдующія количества пластеиннаго осадка: фракція II 12,02 % фракція III 5,9 % фракція IV 1,5 % (смѣсь всѣхъ фракцій 7,99 %). Съ прокипяченнымъ сокомъ поджелудочной железы авторами полученъ съ пептономъ Witte студень, подобный полученному съ непрокипяченнымъ кишечнымъ сокомъ.

По мнѣнію авторовъ всѣ фракціи Risk'a альбумозъ реагируютъ съ сычужнымъ ферментомъ. Авторы въ этой реакціи, ведущей къ образованію пластеиновыхъ осадковъ, не видятъ регенерацію альбумозъ въ нативные бѣлки, но дальнѣйшее ихъ расщепленіе, называя ихъ сычужными альбумозами. Иные осадки, полученные авторами съ сычужнымъ ферментомъ, отличались отъ антiальбумида Kühne: осадки, въ отличіе отъ антiальбумида перевариваются желудочнымъ сокомъ и при воздѣйствіи на нихъ панкреатическаго сока они образуютъ лейцинъ и тирозинъ, но схожестъ

съ антiальбумидомъ показываютъ осадки, полученные дѣйствіемъ панкреатическаго и кишечнаго соковъ на продукты перевариванія бѣлковъ.

Bayer⁷³⁾ для своихъ опытовъ пользовался прохимозиномъ приготовленнымъ по способу Glaessner'a (Uranylacetat и Uranylphosphat) которымъ онъ дѣйствовалъ на разныя фракціи пептона Witte. I фракція получена осажденіемъ 10 % раствора пептона Witte 95 % алкоголемъ. Эта фракція дала только слабую реакцію въ видѣ незначительнаго осадка; полученный же спиртовой фильтратъ, по удаленіи алкоголя, давалъ обильный осадокъ пластеина. II фракція была получена осажденіемъ спиртоваго фильтрата 2 объемами ацетона. Осадокъ не далъ пластеиновой реакціи, но фильтратъ, послѣ удаленія спирта и ацетона, далъ обильный осадокъ. III фракція получалась осажденіемъ ацетоннаго фильтрата 95 % алкоголемъ, осадокъ не реагировалъ, фильтратъ же давалъ осадокъ пластеина. Пластеинъ автора давалъ слабую реакцію Адамкевича и не содержалъ фосфора, кромѣ того не содержалъ тирозиннаго и цистиннаго кольца. Самому пластеиногену авторъ приписываетъ свойства пептоидовъ. По автору пластеиногенное вещество растворимо въ 95 %-омъ спиртѣ. Количества полученныхъ осадковъ авторомъ не указаны. Въ реакціи образованія осадковъ въ растворахъ продуктовъ распада бѣлковой частицы (— пептоидовъ автора) авторъ видитъ реакцію синтеза, производимаго сычуж-

73) Bayer. Beitr. z. ch. Phys. u. Path. v. Hofmeister. B. IV, N. 12.

нымъ ферментомъ, который отдѣльные такіе продукты сцѣпляетъ въ болѣе сложные атомные комплексы. Приведенный авторомъ элементарный анализъ его пластеина слѣдующій :

$$C = 38,43 \%$$

$$H = 7,01 \%$$

$$N = 8,05 \%$$

Изъ анализа видно что полученное авторомъ съ сычужнымъ ферментомъ тѣло, совершенно не есть какой-либо бѣлокъ.

Кромѣ сычужнаго фермента животнаго происхожденія, давно были констатированы ферменты растительнаго происхожденія, дѣйствующіе подобно первымъ; и нужно полагать, что таковыя, растительнаго, были извѣстны раньше животнаго. Указаніе на это имѣется у древнихъ писателей, напр. Dioscorida⁷⁴⁾ и у другихъ. Свертывающіе молоко ферменты продуцируются и нѣкоторыми бактеріями к. напр. bacillus mesentericus vulgatus, bacillus prodigiosus. Первый микробъ по своей стойкости составляетъ бичъ молочнаго хозяйства. Вокорну⁷⁵⁾ выдѣлилъ изъ Cynara Cardunculus сычужный ферментъ-цинаразу, свертывающій бѣлки молока. Кипяченіемъ онъ не разрушается, онъ обнаруживаетъ свое дѣйствіе при разводеніи 1:50000. Emilio Rosetti⁷⁶⁾ получилъ цинаразу изъ Cynara Scolymusi. По Javillier⁷⁷⁾

74) περί ὄλης ἀτροκίης, (по Peters'y).

75) Вокорну. Pharm. Centralhalle 1900, pag. 518.

76) Emilio Rosetti. Pisa Labf. f. Agr. Chem. 1898.

77) Javillier. Bull. sc. pharm. 1902; 163.

въ многихъ растеніяхъ находится сычужный ферментъ, напр.; въ Lolium perenne, Anthriscus vulgaris, Capsell. burs. past., Plantago lanceolot., Apium Petroselinum, Consolida, Digitalis purpurea u Amygdalus communis.

Сычужный ферментъ этого изслѣдователя убивается при 75°, при 45° обнаруживаетъ optimum дѣйствія. Peters'омъ произведенные опыты съ листьями и плодами отъ Ficus carica показали, что это растеніе содержитъ сычужный ферментъ, который при 40,5° наилучше дѣйствуетъ; при комнатной t° (15°), будучи взятъ даже въ большихъ количествахъ, онъ не производитъ свертыванія. Ферментъ оказался дѣйствительнымъ при нейтральной реакціи. Кромѣ этого авторъ отмѣчаетъ, что этотъ ферментъ оказываетъ свое дѣйствіе, не только на молоко но и на продукты расщепленія казеина молока, возникающіе при дѣйствіи на казеинъ сычужнымъ ферментомъ. Авторъ еще изслѣдовалъ Galium u Carduus benedictus. Первое растеніе показало сильно свертывающее дѣйствіе на молоко при 40,5°, при 15° свертыванія не было замѣчено; съ вторымъ растеніемъ авторъ получилъ отрицательные результаты. Растеніе Carica papaia хотя давно было извѣстно и изслѣдовано, но свертывающее дѣйствіе этого растенія впервые обнаружилъ Wittmasc (по Peters'y). Peters, продѣлавшій въ этомъ направленіи опыты, отмѣчаетъ слѣдующее: въ кислой средѣ сокъ этого растенія (папаинъ) быстрѣе дѣйствуетъ, чѣмъ въ нейтральной и щелочной; кипяченіе разрушаетъ дѣйствіе фермента. Температура свертыванія для него лежитъ между 18° и 55°, optimum при 41°. Разбавленіе молока не замедляетъ свертываніе

какъ при сычужномъ ферментѣ, но наоборотъ ускоряетъ его; соли Na и K тоже ускоряютъ свертываніе.

Изслѣдованія свертывающаго дѣйствія папаіотина, фермента названнаго растенія, на растворы продуктовъ перевариванія бѣлковъ были впервые произведены Д. Кураевымъ⁷⁸⁾; онъ первый констатировалъ, что этотъ ферментъ дѣйствуетъ на растворы продуктовъ перевариванія бѣлковъ, подобно сычужному ферменту. Авторъ при первой своей работѣ съ папаіотиномъ пользовался пептономъ Witte, очищеннымъ отъ нейтрализационнаго осадка и свертывающихся при нагрѣваніи бѣлковъ, продуктами перевариванія, полученными изъ бычачьяго мяса (— черезъ 3 дневное перевариваніе съ пепсиномъ Gröbler) и продуктами перевариванія казеина. Авторъ прибавлялъ къ 10 куб. с. 20 % раствора пептона Witte (амфотерной реакціи) 1 куб. с. 5 % раствора папаіотина. Въ продолженіи первыхъ часовъ опыта замѣтнаго измѣненія не было наблюденно, но черезъ ночь образовался хлопьевидный осадокъ. Растворы альбумозъ, полученныхъ при перевариваніи мяса и казеина, показали одинаковыя отношенія къ свертывающему дѣйствію фермента. При щелочной реакціи 15 % растворъ пептона Witte застудневаетъ, при дѣйствіи на него папаіотина. Полученные такимъ образомъ осадки растворялись въ 0,4 % растворѣ соды; при нейтрализаціи такого щелочнаго раствора выпадалъ объемистый осадокъ. Образование осадка началось

78) D. Kurajeff. Beitr. z. ch. Phys. u. Path. Hofmeister, 1904. В. 1, Н. 3 и 4.

еще при слабо щелочной реакціи. Промытые осадки въ 10 % растворѣ NaCl не растворимы, 0,3 % HCl растворяетъ малыя количества. Растворъ этихъ осадковъ, возникающихъ подъ вліяніемъ папаіотина, даетъ слѣдующія реакціи: биуретовую (фіолетокрасную) р. Миллона, р. Адамкевича и р. Ксантопротеиновую. По мнѣнію автора, осадки полученные съ папаіотиномъ изъ раствора очищеннаго пептона Witte, не идентичны съ альбумозами этого пептона. Авторъ отмѣчаетъ тотъ фактъ, что при дальнѣйшемъ перевариваніи осадка, полученномъ изъ пептона Witte, образуются помимо дейтероальбумозъ только малыя количества первичныхъ альбумозъ. Осадки, полученные изъ дейтероальбумозъ, при дальнѣйшемъ перевариваніи первичныхъ альбумозъ не даютъ. Авторъ⁷⁹⁾ изслѣдовалъ дѣйствіе папаіотина на гетероальбумозу, взятую въ кислотъ растворѣ, но осадка при этомъ не удалось получить. Въ 10,5 %, на половину разбавленныхъ растворахъ протальбумозы, получение осадковъ авторомъ не наблюденно. А и Б альбумозы (по Ріск'у), полученные изъ казеина и мяса, реагируютъ съ папаіотиномъ, давая нѣжные объемистые осадки. Дейтероказеоза даетъ небольшой осадокъ. По мнѣнію автора осадки, полученные съ сычужнымъ ферментомъ и съ папаіотиномъ не идентичны между собою. Впослѣдствіи Окуневымъ⁸⁰⁾ было произведено дальнѣйшее изслѣдованіе дѣйствія, какъ желу-

79) D. Kurajeff. Beitr. z. ch. Phys. u. Path. v. Hofmeister, 1902, В. II, Н. 7—9.

80) Окуневъ. Врачъ 1900. № 21, pag. 662.

дочнаго такъ и панкреатическаго сычужныхъ ферментовъ. Ислѣдователь нашель, что сычужный ферментъ желудка убивается панкреатическимъ сокомъ, но панкреатическій сычужный ферментъ не убивается желудочнымъ сокомъ. По этому автору панкреатическій сычужный ферментъ еще въ 0,5 % растворѣ соды проявляетъ свое свертывающее дѣйствіе на молоко. Телячья кровяная сыворотка убиваетъ желудочный сычужный ферментъ, а панкреатическій она оставляетъ неизмѣненнымъ. А Nürnberg⁸¹⁾ изслѣдовалъ аутолитическіе экстракты разныхъ животныхъ органовъ, касательно ихъ свертывающаго дѣйствія какъ на молоко, такъ и на продукты перевариванія бѣлковъ. Самое сильное свертывающее дѣйствіе на альбумозы показали экстракты изъ печени, за ними слѣдуютъ экстракты желудка и легкихъ, поджелудочной железы, тонкой кишки, толстой кишки, почекъ, мозговъ, тестикулъ и мускуловъ. Но касательно коагуляціи молока очередность другая. Здѣсь экстракты поджелудочной железы занимаютъ первое мѣсто; и въ свѣжемъ видѣ равняются дѣйствію сычужнаго фермента. Другіе экстракты далеко отстаютъ въ этомъ отношеніи, только свѣжіе желудочные экстракты не много энергичнѣе дѣйствуютъ.

Реакція въ слабокислыхъ растворахъ энергичнѣе, только экстракты поджелудочной железы и печени при всѣхъ реакціяхъ дѣйствуютъ равно. Самое лучшее

81) A. Nürnberg. Beitr. z. ch. Phys. u. Path. v. Hofmeister, B. IV, N. 12 (1903) (лаборат. проф. Д. Кураева, Харьков. Унив.).

дѣйствіе проявили 16 часовая вытяжки. Авторъ не рѣшаетъ вопроса дѣйствуетъ ли одинъ или нѣсколько ферментовъ въ этихъ вытяжкахъ.

Итакъ, въ настоящее время извѣстенъ цѣлый рядъ свертывающихъ ферментовъ, какъ животнаго, такъ и растительнаго происхожденія.

Подводя итогъ литературнымъ даннымъ, имѣющимся въ настоящее время, касательно свертывающаго дѣйствія сычужнаго фермента, папаютина и др. свертывающихъ ферментовъ на продукты перевариванія бѣлковъ, мы должны отмѣтить слѣдующее, какъ главнейшіе результаты изслѣдованій, приведенныхъ по этому вопросу. Послѣ вышеуказаннаго открытія проф. А. Данилевскаго, что сычужный ферментъ въ состояніи образовывать въ продуктахъ перевариванія бѣлковъ осадки, былъ произведенъ рядъ изслѣдованій, направленныхъ, какъ къ изученію условій этого дѣйствія сычужнаго фермента, такъ и къ изученію образующихся при этомъ дѣйствіи продуктовъ.

Какіе продукты перевариванія бѣлковъ способны реагировать съ сычужнымъ ферментомъ, — это было изслѣдовано, но мнѣнія авторовъ по этому вопросу расходятся. Такъ Завьяловъ, М. Лаврова и С. Салазкинъ пришли ко мнѣнію, что первичныя и вторичныя альбумозы способны къ этой реакціи; по Завьялову — также и амфопептонъ. Но другіе изслѣдователи держатся другого мнѣнія напр., Д. Кураевъ нашель, что гетеро- и протальбумоза не способны реагировать. Вауер заключаетъ, что на реакцію съ сычужнымъ ферментомъ преимущественно способны такіе продукты перевариванія бѣлковъ, которые являются продуктами глубокаго распада бѣлковой частицы. Осадки полу-

ченныя вышесказанными авторами, хотя не согласуются касательно содержания углерода, азота и т. далѣ между собою, тѣмъ не менѣ несутъ нѣкоторыя общія свойства, к. напр. остудневаніе болѣе концентрированныхъ растворовъ при нейтрализаціи послѣднихъ, не растворимость въ водѣ, общій внѣшній видъ и пр. Что касается взгляда на сущность этой реакціи, то и здѣсь мнѣнія авторовъ совершенно расходятся. В. Окуневъ и Д. Лавровъ въ этой реакціи видятъ альбуминизацію гидратированныхъ бѣлковъ т. е. дегидратацію послѣднихъ. Завьяловъ высказывается за прямую регенерацію продуктовъ перевариванія въ глобулиноподобный продуктъ. М. Лаврова и С. Салазкинъ видятъ въ этой реакціи дальнѣйшее расщепленіе продуктовъ перевариванія. Д. Кураевъ смотритъ на эту реакцію, какъ на частичное свертываніе нѣкоторыхъ продуктовъ перевариванія. Вауеръ, стоящій особнякомъ, высказывается за синтезъ и называетъ эту реакцію сцѣпленіемъ обломковъ бѣлковой частицы. Большой интересъ, во всякомъ случаѣ, представляетъ названный вопросъ для физиологической химіи, хотя можетъ быть эта реакція и не имѣетъ того значенія, какое ей приписывается нѣкоторыми авторами.

Заканчивая литературный обзоръ этого вопроса, нельзя не замѣтить, что вопросъ о дѣйствиіи сычужнаго фермента на продукты перевариванія бѣлковъ, по нынѣ существующимъ работамъ по этому вопросу, нужно считать далеко не выясненнымъ.

Экспериментальная часть.

Для выясненія мною намѣченныхъ вопросовъ, касательно дѣствія сычужнаго фермента на продукты перевариванія бѣлковыхъ веществъ, я пользовался слѣдующимъ матеріаломъ:

- 1) Альбуминами лошадиной кровяной сыворотки.
- 2) Глобулинами лошадиной кровяной сыворотки.
- 3) Пептономъ Witte — разными его фракціями.
- 4) Амфопептономъ изъ пептона Witte.
- 5) Амфопептонами, получен. изъ куриного бѣлка.
- 6) Антипептонами изъ глобулиновъ лошадиной кровяной сыворотки.
- 7) Антипептонами бѣлковъ сыворотки.
- 8) Продуктами не долгаго пептического перевариванія глобулиновъ и альбуминовъ.
- 9) Продуктами, полученными по Bayer'у.

Препаратами сычужнаго фермента служили:

- 1) Датскій сычужный экстрактъ лабораторіи Hansen'a въ Копенгагенѣ [полученн. чер. фирму Л. Зандерсъ въ Юрьевѣ, содержащій 24,82 % плотныхъ веществъ и 0,78 % азота (по Kjeldahl'у)].
- 2) Пепсинъ Grübler'a.

Фракціонируя растворъ пептона Witte ниже слѣдующимъ образомъ, я преслѣдовалъ то, чтобы

получить рядъ фракціи изъ продуктовъ различной степени перевариванія, дабы по этимъ продуктамъ выяснитъ спорный вопросъ, какіе изъ высаливающихся $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, являются самыми выгодными для этой реакціи. При этомъ я не преслѣдовалъ цѣль, получить эти продукты индивидуально чистыми.

Приготовление альбуминовъ и глобулиновъ лошадиной кровяной сыворотки.

18 литровъ свѣжей лошадиной крови послѣ 2 сутокнаго отстаиванія на холоду, обработаны слѣдующимъ образомъ: сыворотка отдѣлена сифономъ (7500 куб.) и смѣшана съ равнымъ объемомъ насыщеннаго раствора сѣрнокислаго аммонія (Ammon. sulfur. pur.). Послѣ сутокнаго отстаиванія осадокъ глобулиновъ былъ отдѣленъ фильтрованіемъ, высушенъ между фильтровальной бумагой, снова растворенъ въ перегнанной водѣ и опять осажденъ сѣрнокислымъ аммоніемъ. Эта операція была еще разъ повторена. Растворъ глобулиновъ, для удаленія сѣрнокислаго аммонія, подвергнутъ діализу въ пергаментныхъ мѣшкахъ. Первые 3 дня съ водопроводною водою, а остальное время съ перегнанной. Діализъ продолжался до исчезновенія реакціи на H_2SO_4 . Во избѣженіи загниванія прибавлялся хлороформъ въ наружную воду, а въ мѣшки порошкообразный тимоль. При діализѣ образовался небольшой осадокъ изъ глобулиновъ.

Freund и Joachim⁸²⁾, занимавшіеся изслѣдо-

82) Freund и Joachim. Ztsch:ft f. physiol. Chem. 1902, 407.

ваніемъ глобулиновъ сыворотки, отмѣчаютъ, вопреки существующему взгляду, по которому только эйглобулины не растворимы въ водѣ — что существуютъ эйглобулины, какъ и псевдоглобулины въ видѣ растворимыхъ въ водѣ и не растворимыхъ въ ней. Нерастворяющіеся въ водѣ глобулины свертываются, будучи взяты въ 0,6 % NaCl при 77°. Добытые мною глобулины, при произведенныхъ мною опытахъ показали такую же t^0 свертыванія, какая указана названными авторами.

Для полученія альбуминовъ, къ фильтрату, полученному отъ осадка глобулиновъ, было прибавлено $\frac{1}{3}$ нормальной H_2SO_4 до образованія легкой мути. Жидкость поставлена на 3 сутокъ на холодъ при 0° — 1° . При стояннн осадокъ увеличился. На второй день стояннн первоначальный аморфный осадокъ перешелъ въ кристаллическій, съ образованіемъ иголокъ. Осадокъ, отдѣленный фильтрованіемъ, высушивался между фильтровальной бумагой и снова растворялся въ перегнанной водѣ. Водной растворъ подвергся діализу въ пергаментныхъ мѣшкахъ. Для устраненія загниванія, какъ и при глобулинахъ, прибавленъ хлороформъ и тимоль. Діализъ въ началѣ производился съ водопроводною водою, а затѣмъ съ перегнанной водою до исчезновенія реакціи на N_2SO_4 .

Обработка пептона Witte.

Фракція I.

1500 грм. пептона Witte (оригинальный препаратъ) растворены въ водѣ, растворъ былъ слабо подкисленъ, нагрѣтъ до $80-85^\circ$ и отдѣленъ отъ осадка. Полу-

ченный фильтратъ, имѣющій слабокислую реакцію, былъ насыщенъ при 80—75° С. сѣрнокислымъ аммоніемъ. Выдѣлившійся обильный осадокъ былъ отдѣленъ, растворенъ въ водѣ и снова осажденъ такимъ же образомъ сѣрнокислымъ аммоніемъ, что было повторено еще разъ. Выдѣленные такимъ высаживаніемъ альбумозы были растворены въ перегнанной водѣ и подвергнуты діализу въ пергаментныхъ мѣпкахъ. Для устранения загниванія прибавлено по прежнему хлороформъ и тимоль. Первые три дня діализъ производился съ водопроводной водой, а затѣмъ съ перегнанной. Послѣ 7 суточнаго діализа внутри мѣшковъ имѣлся обильный хлопчатый осадокъ, именно осадокъ гетероальбумозы, которая была отдѣлена фильтрованіемъ отъ другихъ альбумозъ. Полученный фильтратъ былъ сущенъ на водяной банѣ до приблизительно 20 % содержанія альбумозъ, послѣ чего къ сгущенному раствору было прибавлено до 20 % крѣпкаго алкоголя. Выдѣлившійся осадокъ былъ растворенъ въ са. 1,5 литр. воды. Такимъ образомъ получено са. 1,5 литра 19,2 % раствора фракціи № I.

Фракція II.

Къ полученному отъ первой фракціи фильтрату было прибавлено алкоголя до 40 %. Образовавшійся осадокъ былъ обработанъ подобно первому. Такимъ образомъ получено 500 куб. с. 9,4 % раствора съ 0,23 % содержаніемъ золы. Растворъ имѣлъ соломенно-желтый цвѣтъ.

Фракція III.

Фильтратъ отъ осадка № II былъ смѣшанъ съ алкоголемъ до 60 % содержанія, возникшій осадокъ былъ отдѣленъ и растворенъ въ водѣ. Получено 500 куб. с. раствора, съ содержаніемъ 15,9 % сухаго вещества и 0,188 % золы.

Фракція IV.

Фильтратъ фракціи III доведенъ до 75 % содержанія алкоголя; образовавшійся липкій осадокъ послѣ суточнаго отстаиванія фильтрованіемъ отдѣленъ и обработанъ по прежнему. Получено 600 куб. с. 11,94 % раствора съ 0,184 % содержаніемъ золы.

Фракція V.

Къ фильтрату фракціи IV прибавлено этил. эфира, а именно на 10 частей (по объему) фильтрата было взято 6 частей эфира. Послѣ суточнаго отстаиванія при комнатной t° осадокъ фильтрованіемъ отдѣленъ и растворенъ въ водѣ. Получено 400 куб. с. 10,2 % раствора, съ содержаніемъ слѣдовъ золы.

Фракція VI.

Фильтратъ фракціи V былъ освобожденъ отъ спирта и эфира и сгущенъ на водяной банѣ; при этомъ получено 400 куб. с. 6,8 % раствора, съ содержаніемъ слѣдовъ золы.

Приготовление амфопептона из пептона Witte.

Амфопептонъ былъ полученъ по способу K ü h n e, а именно насыщеніемъ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ водного кислаго раствора пептона Witte при кипяченіи. Полученный амфопептонъ былъ двукратно очищенъ черезъ раствореніе въ водѣ и обработкою водного раствора насыщеніемъ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ при кипяченіи. Изъ полученнаго раствора амфопептона, часть сѣрнокислаго аммонія выдѣлена алкогелемъ, а остатокъ послѣдней соли удаленъ $\text{Ba}(\text{OH})_2$. Для очищенія амфопептона отъ моноаминовыхъ кислотъ, растворъ его былъ подвергнутъ осажденію фосфовольфрамовой кислотой (очищенной эфиромъ). Осадокъ былъ 4 кратно промытъ перегнанной водой, подкисленной H_2SO_4 и осторожно разложенъ $\text{Ba}(\text{OH})_2$.

Приготовление амфопептоновъ изъ куриного бѣлка.

1 Kilogr. сухаго куринаго бѣлка растворенъ въ 14 литрахъ перегнанной воды съ прибавленіемъ 0,5 % HCl . Растворъ раздѣленъ на 2 половины по 7 литровъ и на каждую половину прибавлено по 7,0 грм. пепсина G r ü b l e r. Смѣси поставлены въ термостатъ для перевариванія при температурѣ $36-38^\circ$. Переваривающая способность жидкостей испытывалась каждые 3 дня (по M e t t y). При этомъ оказалось, что при пептическомъ перевариваніи она скорѣе слабѣетъ, чѣмъ при триптическомъ. Когда переваривающая способность дошла до 1 mm, было снова прибавлено по 5 грм. въ каждую порцію пепсина G r ü b l e r. Послѣ 18 дневнаго перевариванія одна изъ порцій использована на приготовленіе амфопептона короткаго, пере-

вариванія. Для этого растворъ былъ обработанъ вышеупомянутымъ образомъ по K ü h n e. Было получено 500 куб. с. раствора этого пептона, содержащаго 12,1 % сухаго вещества и 1,638 % азота (по K j e d a h l'y).

Другая порція переваривающагося куринаго бѣлка, послѣ $3\frac{1}{2}$ мѣсячнаго перевариванія, подвергнута такой же обработкѣ. Выставленный на холодъ, растворъ этого амфопептона выдѣлилъ небольшой кристаллическій органический осадокъ. Растворъ этого амфопептона содержалъ сухаго остатка 13,8 %, азота 1,742 % (по K j e d a h l'y).

Приготовление антипептоновъ изъ глобулиновъ лошадиной кровяной сыворотки.

Къ 9 литрамъ с. 3 % раствора глобулиновъ, послѣ прибавленія 0,5 % соды, прибавлено 10,0 грм. трипсина G r ü b l e r. Смѣсь поставлена въ термостатъ при температурѣ $36-38^\circ$, съ избыткомъ хлороформа. Каждые 3 дня были взяты маленькія пробы, для испытанія на переваривающую способность (по M e t t y) смѣси. Когда переваривающая способность дошла до 1 mm., былъ прибавленъ снова ферментъ. Черезъ 12 дней было взято 4000 куб. с. смѣси, для приготовленія антипептона короткаго перевариванія. Оставшіеся 5 литровъ оставлены на дальнѣйшее перевариваніе (3 мѣсяца).

Взятая проба (4 Litr.) послѣ нейтрализаціи была выпарена на водяной банѣ до 1 литра. Полученный растворъ осажденъ по способу K ü h n e отъ продуктовъ, осаждающихся $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, при чемъ былъ

полученъ небольшой осадокъ альбумозъ. Послѣ отдѣленія небольшого свертка альбумозъ, растворъ былъ освобожденъ отъ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ съ помощью спирта и BaCO_3 , сгущенъ на водяной банѣ до небольшого объема и поставленъ на холодъ для выскристаллизаціи части амидокислотъ, которыя и были отдѣлены фильтрованіемъ. Получено 350 куб. с. раствора съ 18,4 % содержаніемъ сухаго остатка и 2,482 % азота (по Kjeldahl'y). Препарат этотъ соотвѣтствуетъ антипептону Kühne, съ небольшимъ содержаніемъ амидокислотъ.

Антипептонъ изъ глобулиновъ долгаго перевариванія.

Послѣ 3 мѣсячнаго перевариванія выше указаннаго раствора глобулиновъ, послѣдній обработанъ выше указаннымъ образомъ по Kühne. При высаливаніи съ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ было замѣчено, что количество альбумозъ было очень малое. Полученный растворъ антипептона содержалъ 22,2 % сухаго вещества и 2,854 % азота по Kjeldahl'y). Этотъ антипептонъ какъ и прежній содержалъ небольшое количество амидокислотъ.

Приготовленіе антипептоновъ сывороточныхъ бѣлковъ.

800,0 грм. сывороточнаго бѣлка (E. Merc's'a) были раздѣлены на 2 части (по 400 грм.). Къ каждой изъ этихъ порцій прибавлено до 6 литровъ перегнанной воды и 0,5 % соды. Обѣ порціи послѣ прибавленія къ каждой по 10,0 грм. трипсина Gruber, поставлены въ термостатъ при 36—38°, съ избыткомъ CHCl_3 . Каждые 3 дня переваривающійся растворъ испытанъ по Mett на переваривающую способность,

Когда переваривающая способность дошла до 1 мм., прибавлено новое количество трипсина. Послѣ 16 дневнаго перевариванія одна порція взята, для приготовления антипептона короткаго перевариванія. Другая же оставлена на дальнѣйшее перевариваніе на 4 мѣсяца. Жидкость 16 дневнаго перевариванія профильтрована, нейтрализована и выпарена на водяной банѣ до 1 литра. Растворъ этотъ былъ обработанъ вышеуказаннымъ образомъ по Kühne, для полученія антипептона. Такъ было получено 400 к. с. раствора, содержащаго 24,8 % сухаго вещества и 3,786 % азота (по Kjeldahl'y).

Антипептонъ долгаго перевариванія приготовлялся такимъ же образомъ. Получено было с. 450 куб. с. раствора, содержащаго 29,4 % сухаго вещества и 4,189 % азота (по Kjeldahl'y).

Недолгое пептическое перевариваніе альбуминовъ и глобулиновъ лошадиной кровяной сыворотки.

Кромѣ вышеописанныхъ матеріаловъ, были ещё поставлены на не долгие пептическое перевариваніе, альбумины и глобулины. Изъ этихъ продуктовъ перевариванія были приготовлены эфирно-алкогольныя вытяжки (о которыхъ будетъ сказано ниже), которыя оказались наибольше выгодными, для реакціи съ сычужнымъ ферментомъ.

Реакціи отдѣльныхъ фракцій пептона Witte.

Фракція I.

- 1) Біуретовая р. сильная розово-красн. окраш. интенсивно.

- 2) р. Миллона рѣзк. кирпично-красн. окраш. интензивно.
- 3) При насыщениі при комнатной температурѣ съ NaCl получается обильный осадокъ, но часть альбумозы при этомъ не высаливается; при подкисленіи такого насыщеннаго раствора CH_3COOH — полное высаливаніе.
- 4) $\text{K}_4\text{FeCy}_6 + \text{CH}_3\text{COOH}$ — осадокъ средн. степени.
- 5) HNO_3 , — осадокъ средней степени.
- 6) CuSO_4 — осадокъ средней степени.
- 7) $\text{CuSO}_4 + \text{CH}_3\text{COOH}$; — осадокъ обильный.
- 8) ZnSO_4 въ 4,6 % растворѣ послѣ подкисленія уксусн. кислотой высаливаетъ всю альбумозу.
- 9) Растворъ при сильномъ разбавленіи водой опалесцируетъ, что указываетъ на присутствіе малыхъ количествъ гетероальбумозы, которую діализомъ не возможно было вполнѣ удалить.
- 10) Реакціи Молиша не получено.

Итакъ, по указаннымъ реакціямъ нужно эту альбумозу считать за протальбумозу (или за альбумозу близко стоящую къ послѣдней), содержащую незначительное количество-гетеро и дейтероальбумозъ.

Фракція II.

Реакцій.

- 1) р. Біуретовая — розово-краснаго окраш, интензив.
- 2) р. Миллона — интензивно, кирпично-красн. окраш.
- 3) р. Либермана — фіолетовое окрашиваніе интензивн.
- 4) р. Молиша — фіолетов.-окрашиван. интензивное
- 5) р. Адамкевича — малинов. окраш., рѣзкое.

- 6) Азотная кислота — не даетъ мути.
 - 7) $\text{HNO}_3 + \text{NaCl}$, при маленькомъ-количествѣ послѣдняго небольш. муть, а при большомъ, осадокъ (сред. степени).
 - 8) CuSO_4 — не даетъ ни мути и не осадка.
 - 9) $\text{CuSO}_4 + \text{CH}_3\text{COOH}$, — ни мути, ни осадка получается.
 - 10) NaCl при нейтральной какъ и кислой реакціи не высаливаетъ вполнѣ: фильтратъ даетъ слабую біуретовую реакцію.
 - 11) MgSO_4 не даетъ мути и осадка.
 - 12) $\text{K}_4\text{FeCy}_6 + \text{CH}_3\text{COOH}$ — не реагируетъ.
- Приведенныя реакцій показываютъ, что эта фракція состоитъ изъ смѣси дейтероальбумозъ, содержащихъ углеводную группу.

Фракція III.

Реакцій.

- 1) Біуретовая р. — розово-красн. окраш. интензивное.
- 2) р. Миллона — кирпично-красн. окраш., интензивное.
- 3) р. ксантопротеиновая-желтая чер. оранжево-желт. средней степени.
- 4) р. Молиша — фіолетовотовая, окр., интензивное.
- 5) р. Адамкевича — розово-фіолетовая, окраш. интензивное.
- 6) р. Либермана — синефіолетовая, окраш. интензивное.
- 7) CuSO_4 — не даетъ осадка.
- 8) $\text{K}_4\text{FeCy}_6 + \text{CH}_3\text{COOH}$ — нѣтъ осадка.
- 9) NaCl до насыщениія $+ \text{CH}_3\text{COOH}$, полного осажденія не получается.

10) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ до насыщения + CH_3COOH — полное осаждение.

11) HNO_3 — нѣтъ осадка.

По приведеннымъ реакціямъ, эту фракцію нужно считать смѣсью дейтероальбумозъ, а имѣнно съ при-
мѣсью дейтероальбумозы С (по Hofmeister'y).

Фракція IV.

Реакцій.

- 1) р. Биуретовая — розово-красная окраш. интензивное.
- 2) р. Миллона — кирпично-красная.
- 3) р. Ксантопротеиновая — средн. степени.
- 4) р. Молиша — сине-фіолетовая ср. степени.
- 5) р. Адамкевича — малиновая, окр. сред. степени.
- 6) HNO_3 — не даетъ мути.
- 7) $\text{NaCl} + \text{HNO}_3$ — муть средн. степени.
- 8) $\text{K}_4\text{FeCy}_6 + \text{CH}_3\text{COOH}$ — ни мути, ни осадка.
- 9) NaCl — не большой осадокъ.
- 10) NaCl до насыщения + CH_3COOH — нѣтъ полнаго осаждения.
- 11) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ до насыщения + CH_3COOH — полное осаждение.

Эта фракція, судя по реакціямъ, носитъ чисто дейтероальбумозный характеръ.

Фракція V.

Реакцій.

- 1) р. Биуретовая — розово-красная, окраш. интензивное.
- 2) р. Миллона — кирпичнокрасная, окр. интензивное.

3) р. Молиша — сине-фіолетовая, окраш. интензивное.

4) р. Адамкевича — малиновая.

5) HNO_3 — нѣтъ мути.

6) $\text{HNO}_3 + \text{NaCl}$ — муть, осадокъ.

7) $\text{K}_4\text{FeCy}_6 + \text{CH}_3\text{COOH}$ — безъ измѣненія.

8) NaCl — муть — не большой осадокъ.

9) $\text{NaCl} + \text{CH}_3\text{COOH}$ — нѣтъ полнаго осаждения.

10) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 + \text{CH}_3\text{COOH}$ — полное осаждение.

Итакъ эта фракція носитъ чисто дейтероальбу-
мозный характеръ.

Фракція VI.

Реакцій.

- 1) р. Биуретовая — розово-красная, окраш. интензивное.
- 2) р. Миллона — кирпично-красная, окраш. интензивное.
- 3) р. Молиша — не получена.
- 4) р. Адамкевича — фіолетово-малиновая — окраш. интензивное.
- 5) HNO_3 — нѣтъ мути.
- 6) NaCl — большой осадокъ.
- 7) $\text{K}_4\text{FeCy}_6 + \text{CH}_3\text{COOH}$ — безъ измѣненія.
- 8) CuSO_4 — безъ измѣненія.
- 9) $\text{CuSO}_4 + \text{CH}_3\text{COOH}$ — безъ измѣненія.
- 10) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — полное осаждение.
- 11) р. Ксантопротеиновая — средней степени.

Эта фракція равняется по большинству реакцій предидущимъ, разницу она составляетъ, въ болѣе

легкой осаждаемости съ NaCl, какъ не полученія съ ней реакціи Молиша.

Предварительные опыты съ сычужнымъ ферментомъ.

Эти опыты были предприняты для предварительнаго установленія его силы и условій наилучшаго его дѣйствія, какъ на молоко, такъ и на альбумозы. Въмѣстѣ съ тѣмъ были произведены опыты дѣйствія его на нативные бѣлки.

Опытъ № 1.

При этомъ опытѣ ферментъ разбавлялся въ 10 разъ водой. При этомъ, какъ и всѣхъ послѣдующихъ, съ каждой пробой содержащей дѣятельный ферментъ, ставилась ей соотвѣтствующая съ убитымъ ферментомъ. Ферментъ убивался кипяченіемъ.

	Молоко.	Сычуж. ферм.	t°	Время свертыв.	Контроль.
1	10 куб. с.	1 кап.	40°	9 мин.	безъ измѣненія
2	"	2 "	"	3 "	
3	"	3 "	"	1 м. 15 с.	
4	"	4 "	"	45 сек.	
5	"	5 "	"	34 "	

Опытъ № 2.

— Растворъ фермента разбавлялся въ 100 разъ водой.

	Молоко.	Сычуж. фермент.	t°	Время свертыв.	Контроль.
1	10 куб с.	1 кап.	40°	2 ч. 16 м.	безъ измѣненія.
2	"	2 "	"	44 "	
3	"	3 "	"	31 "	
4	"	4 "	"	21½ "	
5	"	5 "	"	20 "	

Эти два небольшихъ опыта съ молокомъ показали, что касательно свертыванія молока ферментъ, которымъ я пользовался былъ очень дѣйствителенъ.

Дальнѣйшіе предварительные опыты съ сычужнымъ ферментомъ были произведены на глобулинахъ, альбуминахъ, альбумозъ. Паралельно съ этими тѣлами производились и опыты съ смѣсями ихъ. Глобулины и альбумины употреблялись выше приготовленные, при t° 30—37° сгущенные до 8% и 6% содержания. Кромѣ того мною были изслѣдованы нѣкоторыя соли, касательно ихъ вліянія на дѣйствіе сычужнаго фермента и вышеуказанныя тѣла.

Опытъ № 3.

По мнѣнію Hammarsten'a хлористый кальцій ускоряетъ свертывающее дѣйствіе сычужнаго фермента, но нѣкоторые другіе авторы напр. Loscher (Ch. Ztg. 1898) противоположнаго мнѣнія. Количество при-

бавленного фермента, показано въ не разбавленномъ видѣ.

	Молоко.	Сычуж. фермент.	CaCl ₂	Время свертыв.	Контроль	t ⁰
1	10 куб. с.	1/10 кап.	0,1 %	5 мин.	безъ измѣненія.	40 ⁰
2	"	"	0,2 %	3 "		"
3	"	"	0,3 %	2 1/2 "		"
4	"	"	0,4 %	2 "		"
5	"	"	0	10 1/2 "		"

Опытъ № 4.

При этомъ опытѣ CaCl₂ примѣненъ въ болѣе широкихъ границахъ.

	Молоко.	CaCl ₂	Прод. опыта.	Реакц.	Сычуж. фермент.	t ⁰
1	10 куб. с.	0,1 %	13 мин.	Свертыв.	1/20 кап.	40 ⁰
2	"	0,2 %	6 "	"	"	"
3	"	0,3 %	2 1/2 "	"	"	"
4	"	0,4 %	2 "	"	"	"
5	"	0,5 %	1 м. 15 с.	"	"	"
6	"	0,6 %	40 сек.	"	"	"
7	"	0,7 %	30 "	"	"	"
8	"	0,8 %	30 "	"	"	"
9	"	0,9 %	15 "	"	"	"
10	"	1 %	15 "	"	"	"
11	"	0	25 мин.	"	"	"

Съ этимъ опытомъ былъ поставленъ другой ему равный, только безъ сычужнаго фермента. При этомъ послѣднемъ было наблюденно, что при нагрѣваніи отъ 50—80⁰, начиная съ 0,3 % содержанія CaCl₂, всѣ пробы свернулись. Два послѣднихъ опыта наглядно показываютъ ускоряющее дѣйствіе при свертываніи молока въ присутствіи CaCl₂. Молоко содержащее 0,5 % CaCl₂ погруженное въ горячую воду (80⁰) свертывается въ продолженіи 1 минуты. Чѣмъ богаче молоко кальціевыми солями, тѣмъ скорѣе оно свертывается. Для различныхъ солей кальція температура свертыванія не одинакова. Соли барія и стронція относились аналогично таковыми кальція.

Опытъ № 5.

Въ виду того, что по нѣкоторымъ авторамъ хлористый натрій ускоряетъ дѣйствіе сычужнаго фермента, мною былъ поставленъ опытъ съ послѣднею солью. Опытъ показалъ, что растворы до 0,8 % крѣпости незначительно ускоряютъ дѣйствіе этого фермента, но болѣе крѣпкіе напротивъ замедляютъ его дѣйствіе. На 5 % растворѣ это замедленіе, дошло до значительныхъ размѣровъ, молоко содержащее такое количество послѣдней соли, свернулось на 5 1/2 разъ позже чистаго молока.

Опытъ № 6.

Для этого опыта взяты выше описанные глобулины лошадиной кровяной сыворотки, 8 % содержанія органическаго остатка и слѣдовъ солей.

	Молоко.	Глобул.	Сычуж. ферм.	Продол. опыта.	Реакц.	t°
1	0	10 куб. с.	1/10 кап.	2 час.	0	40°
2	0	"	0	"	0	"
3	5 куб. с.	5 куб. с.	0	"	0	"
4	5 куб. с.	5 куб. с.	1/10 кап.	"	0	"
5	10 куб. с.	0	0	"	0	"
6	"	0	1/10 кап.	9 мин.	свертыв.	"

Опыт № 7.

Аналогичный предыдущему, только количество фермента увеличено.

	Молоко.	Глобул.	Сыч. ферм.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	0	10 куб. с.	0	2 час.	0	40°
2	0	"	1/2 кап.	2 час.	0	"
3	5 куб. с.	5 куб. с.	1/2 кап.	1 час. 25 м.	сверт.	"
4	5 куб. с.	10 куб. с.	0	2 час.	0	"
5	10 куб. с.	0	1/2 кап.	35 сек.	сверт.	"
6	"	0	0	2 час.	0	"

Изъ этихъ двухъ опытовъ видно, что присутствіе глобулиновъ сильно отзывается на дѣйствіе моего препарата сычужнаго фермента на молоко, замедляя его въ значительной степени. На чистые глобулины сычужный ферментъ дѣйствія втеченіи

2 часовъ не производилъ. Korshun⁸³⁾ при своихъ изслѣдованіяхъ надъ лошадиною сывороткою замѣчаетъ, что кровяная сыворотка лошади содержитъ ферментъ антихимозинъ, который въ достаточномъ количествѣ прибавленный можетъ совершенно уничтожить дѣйствіе сычужнаго фермента. При комнатой температурѣ этотъ ферментъ медленно противодѣйствуетъ, въ термостатѣ скоро. K. Spiro⁸⁴⁾ противоположнаго мнѣнія, этотъ авторъ полагаетъ, что глобулины по своему кислотному характеру соединяются съ кальціемъ молока и переводятъ послѣдній въ нерастворимую форму, исключая его этимъ изъ реакцій. Korshun кромѣ антихимозина еще нашелъ въ лошадиной сывороткѣ другой ферментъ, псевоантихимозинъ, которой отличается отъ перваго тѣмъ что его, псевоантихимозинъ, можно удалить діализомъ. Псевдоантихимозинъ разслабляетъ дѣйствіе антихимозина.

Опыт № 8.

	Молоко.	Глобул.	Сыч. ферм.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	0	10 к. с.	0	36 час.	0	40°
2	0	10 к. с.	2 кап.	"	0	"
3	5 куб. с.	5 куб. с.	2 кап.	40 мин.	сверт.	"
4	5 куб. с.	5 к. с.	0	36 час.	0	"
5	10 куб. с.	0	0	5 час.	0	"
6	"	0	2 кап.	10 сек.	сверт.	"

83) Korshun. Z. f. physiol. Ch. 1902, pag. 141.

84) K. Spiro. Z. f. physiol. Ch. 1900. № 1—2.

Въ этомъ опытѣ использованы не свернушіеся пробы 1, 2, 4 послѣдняго опыта, къ нимъ прибавлено дальнѣйшее количество сычужнаго фермента.

Опытъ № 9.

Для этого опыта употреблены не свернушіеся пробы предыдущаго опыта 1, 2, 4, къ 1 и 2 прибавлено по 4 капли фермента.

	Молоко.	Глобул.	Сыч. ферм.	Прод. опыта.	Реакц.	t ⁰
1	0	10 к. с.	0	22 час.	0	40 ⁰
2	0	10 к. с.	6 кап.	"	0	"
3	5 к. с.	5 к. с.	"	2 1/2 час.	сверт.	"
4	5 к. с.	5 к. с.	0	22 час.	"	"
5	10 к. с.	0	0	5 час.	0	"
6	"	0	6 кап.	6 сек.	сверт.	"

Опыты № 8 и № 9 тоже указываютъ на то, что глобулины лошадиной кровяной сыворотки сильно задерживаютъ дѣйствіе сычужнаго фермента на молоко.

Опытъ № 10.

Въ виду того, что можно было предположить, что при опытахъ № 6 — № 9 задерживающее дѣйствіе глобулиновъ зависѣло отъ постепеннаго разрушенія сычужнаго фермента отъ послѣднихъ бѣлковыхъ тѣлъ, опытъ, этотъ былъ предпринятъ, для выясненія того, на сколько сычужный ферментъ уцѣлѣлъ при указан-

ныхъ опытахъ. Для этого была взята 4 проба опыта № 9 отъ 1—3 капель. Кромѣ этого продѣланъ и опытъ съ убитою пробой сказаннаго номера.

	Молоко.	Проба 4. № 9.	Прод. опыта.	Реакц.	t ⁰
1	10 к. с.	1 кап.	2 ч. 12 м.	сверт.	40 ⁰
2	"	3 "	1 " 8 "	"	"
3	"	6 "	— " 25 "	"	"
4	"	6 " убит.	3 " — "	0	"
5	"	0	3 " — "	0	"

Это испытаніе 4-той пробы опыта № 9 показываетъ, что сычужный ферментъ въ препаратахъ глобулиновъ лошадиной кровяной сыворотки при условіяхъ опыта № 9 не разрушился, такъ что дѣйствіе этихъ бѣлковыхъ веществъ на означенный ферментъ, сказывается только задерживающимъ образомъ.

Опытъ № 11.

Этотъ опытъ произведенъ съ цѣлью узнать на сколько глобулины своимъ присутствіемъ въ растворахъ альбумозъ могутъ задерживать дѣйствіе сычужнаго фермента въ послѣднихъ. Растворы альбумозъ состояли изъ смѣси дейтероальбумозъ, приготовленныхъ изъ пептона Witte. Растворъ альбумозъ 13,96 % крѣпости. Растворъ глобулиновъ содержалъ 8 % сухаго остатка.

	Глобул.	Альбу- моз.	Сыч. ферм.	Прод. опыта.	Наступ. реакц.	H ₂ O	t ⁰
1	10 к. с.	0	10 кап.	24 час.	0	0	40 ⁰
2	0	10 к. с.	10 "	"	чер. 40 м. мутъ.	0	"
3	5 к. с.	5 " "	10 "	"	0	0	"
4	5 " "	5 " "	0	"	0	0	"
5	0	5 " "	10 кап.	"	чер. 40 м. мутъ.	5 к. с.	"
6	10 к. с. молок.	0	10 "	мгновен. свертыван.		0	"
7	"	0	0	5 час.	0	0	0

Опытъ № 12.

Этотъ опытъ произведенъ для выясненія того, насколько сычужный ферментъ уцѣлѣлъ при послѣднемъ опытѣ. Для этого бралось по 10 кап. пробы 1, 3, 4, 5, 10 и 11 опыта № 11.

	Молоко.	Опытъ № 11.	Продол. опыта.	Реакц.	t ⁰
1	10 к. с.	проба 1	— ч. 11 м.	сверт.	40 ⁰
2	"	" 3	— " 11 "	"	"
3	"	" 4	3 " — "	"	"
4	"	" 5	3 " — "	0	"
5	"	" 10	— " 11 "	сверт.	"
6	"	" 11	3 " — "	0	"
7	"	0	3 " — "	0	"

Означенныя испытанія указываютъ, что сычужный ферментъ въ вышеуказанныхъ смѣсяхъ глобулиновъ и альбумозъ не разрушается, но сохраняетъ свою силу въ продолженіи достаточнаго времени, такъ что нужно принять, что глобулины при такомъ условіи обнаруживаютъ только задерживающее вліяніе по отношенію къ дѣйствию этого фермента на альбумозы.

Опытъ № 13.

Оыты № 3 и 4 показали, что хлористый кальцій сильно способствуетъ дѣйствию сычужнаго фермента на молоко. Въ виду того было прибавлено этой соли къ вышеуказанному 8% раствору глобулиновъ, этой соли. Къ каждой пробѣ прибавлялось по 10 кап. фермента, количество это послѣдняго свертывало 10 куб. с. молока мгновенно.

	Глобул. 8%	Сычуж. ферм.	CaCl ₂	Продол. опыта.	Реакц.	t ⁰
1	10 куб. с.	10 кап.	0,1%	20 час.	0	40 ⁰
2	"	"	0,2%	"	0	"
3	"	"	0,3%	"	0	"
4	"	"	0,4%	"	0	"
5	"	"	0,5%	"	0	"
6	"	"	0,6%	"	0	"
7	"	"	0,7%	"	0	"

Итакъ, этотъ опытъ показалъ, что хлористый кальцій не показалъ благопріятнаго положительнаго вліянія на дѣйствию сычужнаго фермента на глобулины: это

дѣйствіе и въ присутствіи этой соли, повидимому, отрицательное.

Контрольные опыты, подобно опытамъ № 12, показали, что сычужный ферментъ при опытѣ № 13 не утратилъ своей силы. Далѣе опытъ мнѣ показалъ, что кратковременное нагрѣваніе раствора глобулиновъ до 65° не уничтожаетъ ихъ задерживающее вліяніе на свертывающее дѣйствіе сычужнаго фермента.

Опытъ № 14.

При этомъ опытѣ былъ употребленъ 6%-ный водный растворъ вышеописанныхъ мною альбуминовъ.

	Альбумин.	Молоко.	Сычуж. ферм.	Продол. опыта.	Реакц.	t°
1	10 куб. с.	0	1 кап.	24 час.	0	40°
2	"	0	2 "	"	0	"
3	"	0	3 "	"	0	"
4	"	0	4 "	"	0	"
5	"	0	5 "	"	0	"
6	"	0	6 "	"	0	"
7	"	0	7 "	"	0	"
8	"	0	8 "	"	0	"
9	"	0	9 "	"	0	"
10	"	0	10 "	"	0	"
11	"	0	11 "	"	0	"
12	"	0	12 "	"	0	"
13	0	10 куб. с.	1 "	15 сек.	свертыв.	"

Итакъ, опытъ № 14 показываетъ, что сычужный ферментъ не производитъ свертывающаго дѣйствія на болѣе или менѣе крѣпкіе (6%) растворы альбуминовъ лошадиной кровяной сыворотки.

Опытъ № 15.

Для этого опыта взято: 13,96% растворъ дейтероальбумозъ пептона Witte и 6% растворъ альбуминовъ лошадиной кровяной сыворотки.

	Альбу-мины.	Альбу-мозы.	Молоко.	Прод. опыта.	Реакц.	Сыч. ферм.	H ₂ O.	t°
1	10 к. с.	0	0	24 час.	0	1/10 кап.	0	40°
2	5 " "	0	5 куб. с.	12 мн.	сверт.	id.	0	"
3	5 " "	5 к. с.	0	24 час.	0	id.	0	"
4	0	10 " "	0	"	0	id.	0	"
5	10 к. с.	0	0	24 час.	0	10 кап.	0	"
6	5 " "	0	5 куб. с.	мгновенное свертываніе		"	0	"
7	5 " "	5 к. с.	0	24 час.	0	"	0	"
8	0	10 " "	0	"	чер. 40 м. муть	"	0	"
9	0	0	10 к. с.	9 мин.	сверт.	1/10 кап.	0	"
10	0	0	5 " "	12 "	"	"	5 куб. с.	"

Означенный опытъ показываетъ, что 1) альбумины не обнаруживаютъ по видимому никакого вліянія на дѣйствіе сычужнаго фермента на молоко, по крайней мѣрѣ при данныхъ условіяхъ опыта. 2) Эти альбумины, какъ опытъ показалъ, пре-

пятствуютъ дѣйствию сычужнаго фермента на альбумозы.

Паралельно этому опыту поставленъ таковой безъ фермента и съ убитымъ ферментомъ.

Опытъ № 16.

Опытъ съ смѣсью глобулиновъ и альбуминовъ съ молокомъ и сычужнымъ ферментомъ.

	Молоко.	Альбу- мины.	Глобу- лины.	CaCl ₂	Сычуж. ферм.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	5 куб. с.	5 куб. с.	0	0,3%	1/10 кап.	30 сек.		40°
2	"	"	0	0,4%	"	30 "		"
3	"	"	0	0,5%	"	28 "		"
4	"	0	5 куб. с.	0,3%	"	14 мин.	Свертываніе	"
5	"	0	"	0,4%	"	"		"
6	"	0	"	0,5%	"	"		"
7	10 куб. с.	0	0	0	"	5 мин.		"
8	"	0	0	0,3%	"	20 сек.		"
9	"	0	0	0,6%	"	15 "		"

Этотъ опытъ, въ дополненіе къ выше приведеннымъ, наглядно показываетъ рѣзкую разницу между глобулинами и альбуминами относительно ихъ вліянія на дѣйствіе сычужнаго фермента на молоко.

Опытъ № 17.

Содержаніе органическаго вещества въ растворѣ альбумозъ 13,96 %.

	Альбу- моз.	CaCl ₂	NaCl.	Сыч. ф.	Продол. опыта	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0,3%	0	5 кап.	36 мин.	возникновеніе мутн. легкой	40°
2	"	0,6%	0	"	"		"
3	"	0,9%	0	"	"		"
4	"	1,5%	0	"	"		"
5	"	0	0,3%	"	38 мин.		"
6	"	0	0,6%	"	"		"
7	"	0	0,9%	"	"		"
8	"	0	1,5%	"	41 мин.		"
9	молоко 10 к. с.	0	0	"			мгновенное свертываніе

Этотъ опытъ показываетъ, что NaCl и CaCl₂ не обнаруживали будучи взяты въ количествѣ 0,3—1,5 % никакого замѣтнаго вліянія на ускореніе свертывающаго дѣйствія даннаго препарата сычужнаго фермента на растворъ альбумозъ. Контрольная проба съ даннымъ растворомъ альбумозъ (— безъ NaCl и CaCl₂) съ 5 каплями сычужнаго фермента, дала реакцію черезъ 36—41 мин.

Итакъ вышеприведенные опыты указываютъ на то, что

1) сычужный ферментъ не дѣйствуетъ при вышеуказанныхъ условіяхъ, на болѣе и менѣе крѣпкіе растворы глобулиновъ и альбуминовъ.

2) Глобулины и альбумины лошадиной кровяной сыворотки задерживаютъ свертывающее дѣйствіе сычужнаго фермента на альбумозы. Мы знаемъ, что тѣ и другія альбумозы, полученные изъ сывороточныхъ

глобулиновъ и альбуминовъ, реагируютъ съ сычужнымъ ферментомъ, давая интензивную скоро протекающую реакцію, а именно образуя хлопчатый осадокъ „пластеина“. При наличности этого факта съ одной стороны и имѣя ввиду только что приведенныя данныя моихъ опытовъ съ другой стороны, — нельзя не замѣтить, что возникновеніе нерастворимаго „пластеина“ (— о „растворимомъ пластеинѣ“ рѣчь будетъ ниже) не проходитъ черезъ стадію образованія глобулиновъ и альбуминовъ (— пока, а именно на основаніи имѣющихся на лицо опытныхъ данныхъ, я дѣлаю это заключеніе только для бѣлковъ лошадиной кровяной сыворотки); въ виду этого послѣдніе подъ вліяніемъ сычужнаго фермента не образуютъ никакого осадка.

Конечно, еслибъ сычужный ферментъ дѣйствовалъ на растворы указанныхъ альбумозъ регенеративно, т. е. обратно превращая ихъ въ нативные глобулины resp. альбумины, то эти послѣдніе въ результатъ реакціи имѣлись бы въ выше указанномъ альбумозномъ растворѣ, т. е. въ немъ возникали бы бѣлковые вещества, способныя свертываться при болѣе или менѣе высокой температурѣ (— температурѣ свертыванія нативныхъ бѣлковыхъ веществъ). Далѣе при своихъ повторныхъ опытахъ съ альбумозами разнаго происхожденія, реагировавшими съ сычужнымъ ферментомъ довольно рѣзко, я никогда не могъ констатировать въ растворѣ этихъ альбумозъ возникновенія, — подъ вліяніемъ сычужнаго фермента, — подобныхъ бѣлковыхъ веществъ, такъ что я долженъ на основаніи своихъ опытахъ отмѣтить, что я не могъ констатировать возникновенія „растворимаго пластеина“, о которомъ сообщаетъ В. Завьяловъ (l. c.).

Надо полагать, что и въ живомъ организмѣ сывороточные глобулины и альбумины (— по крайней мѣрѣ лошадиной кровяной сыворотки) совершенно задерживаются въ крови resp. тканяхъ свертывающее дѣйствіе сычужнаго фермента на альбумозы.

Здѣсь, нельзя не отмѣтить рѣзкаго отличія касательно вліянія хлористаго кальція на дѣйствіе сычужнаго фермента на казеинъ съ одной стороны, и на альбумозы съ другой стороны: въ 1-омъ случаѣ реакція интензивно ускоряется; во 2-омъ случаѣ не уловливается сколько нибудь замѣтнаго вліянія.

Дѣйствіе сычужнаго фермента на различные продукты перевариванія бѣлковыхъ веществъ.

Какъ выше было указано, въ литературѣ имѣются противорѣчивыя данныя касательно того вопроса, на какіе продукты перевариванія бѣлковыхъ веществъ обнаруживаетъ свое свертывающее дѣйствіе сычужный ферментъ. По даннымъ Д. Лаврова (l. c.), этотъ ферментъ не обнаруживаетъ свертывающаго дѣйствія на продукты перевариванія, не осаждающіеся $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -мъ, а именно на амфопептонъ W. Kühne. По Завьялову (l. c.) всѣ альбумозы (— по схемѣ W. Kühne) и амфопептонъ реагируютъ означеннымъ образомъ съ этимъ ферментомъ. Далѣе, по Д. Кураеву, ни гетероальбумоза, ни протальбумоза не подлежатъ разсматриваемому дѣйствію сычужнаго фермента. С. Салазкинъ и М. Лаврова получали реакцію съ названнымъ ферментомъ, съ фракціями альбумозъ II, III и IV по Ріск'у (loc. c.).

Наконецъ, по Вауег'у (l. c.) сычужный ферментъ

дѣйствуетъ даже на такіе продукты распада бѣлковыхъ веществъ, которые не даютъ біуретовой реакціи, или даютъ таковую очѣнь слабо.

Въ своихъ опытахъ съ различными фракціями пептона Witte я преслѣдовалъ, какъ главнѣйшую цѣль, выяснитъ этотъ вопросъ, который рѣшается пока столь разнородно. Предварительно мнѣ нужно было ориентироваться касательно того, какія главнѣйшія условія среды являются наилучшими для разсматриваемаго дѣйствія сычужнаго фермента, а именно прежде всего я старался выяснитъ значеніе для этого дѣйствія реакціи испытываемаго раствора: вѣдь многіе авторы расходятся касательно и этого вопроса. Касательно реакціи испытываемыхъ растворовъ, съ которыми сдѣлалъ ниже приведенные опыты, долженъ замѣтитъ слѣдующее.

Обозначеніе «0» соотвѣтственныхъ рубрикахъ соляной кислоты и соды показываютъ, что данный растворъ совершенно не содержалъ ни кислоты и ни щелочи, т. е. не давалъ слѣдовъ реакціи съ чувствительнѣйшей конго бумажкою (но слабо реагировалъ съ синей лакмусовой бумажкою).

Обозначеніе «>0» въ рубрикѣ соляной кислоты обозначаетъ, что данный растворъ, вмѣстѣ съ прибавленнымъ сычужнымъ ферментомъ давалъ слѣды реакціи съ конго бумажкою. На свободную соляную кислоту, «0,1 % HCl» значитъ, что къ данному раствору, который обнаружилъ слѣды реакціи на свободную соляную кислоту, было прибавлено HCl до 0,1 % и т. д.

Обозначеніе «>0» соотвѣтствующей содѣ (— углекислой) значитъ, что къ раствору было прибавлено соды до минимальныхъ слѣдовъ щелочной реакціи (— по красной лакмусовой бумажкѣ).

Обозначеніе «0,1 % соды» значитъ, что къ раствору реагирующему щелочно (— слѣды) съ красною лакмус. бумажкою, было прибавлено соды до 0,1 % и т. д.

Опытъ № 18.

Растворъ гетероальбумозы при этомъ опытѣ содержалъ 5,4 % органическаго вещества. Гетероальбумоза растворялась съ помощью слабой соляной кислоты; растворъ не содержалъ свободной соляной кислоты, (— реакція съ конгобумажкою).

	Гетеро-альб.	HCl.	Сода.	Сыч. ферм.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0	0	5 кап.	24 час.	0	40°
2	"	> 0	0	"	"	0	"
3	"	0,1%	0	"	"	0	"
4	"	0	> 0	"	"	0	"
5	молоко 10 к. с.	0	0	"		мгновенное свертыван.	"

Опытъ № 19.

	Гетеро-альб.	HCl.	Сода.	Сыч. ферм.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0	0	10 кап.	23 час.	0	40°
2	"	> 0	0	"	"	0	"
3	"	0,1%	0	"	"	0	"
4	"	0	> 0	"	"	0	"
5	молоко 10 к. с.	0	0	"		мгновенное свертываніе	"

Растворъ гетероальбумозы содержалъ 10,8 % органическаго вещества.

Опытъ № 20.

Растворъ альбумозы тотъ же, что и при опытѣ № 19.

	Гетеро-альб.	HCl.	Сода.	Сыч. ферм.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0	0	15 кап.	25 час.	0	40°
2	"	> 0	0	"	"	0	"
3	"	0,1 %	0	"	"	0	"
4	"	0	> 0	"	"	0	"
5	"	0	0,1 %	"	"	0	"
6	молоко 10 к. с.	0	0	"	мгновенное свертываніе	"	"

Итакъ, опыты № 18 — № 20 показываютъ, что гетероальбумоза не реагируетъ съ сычужнымъ ферментомъ — не даетъ никакого пластеинового осадка. При нагрѣваніи этихъ пробъ, не замѣчено возникновенія и „растворимаго пластеинового осадка“.

Опытъ № 21.

Послѣ 25 часоваго стоянія въ термостати, пробы опыта № 20 были испытаны касательно дѣйствія содержавшагося въ нихъ сычужнаго фермента. Параллельно съ ними поставленъ рядъ съ убитыми пробами.

	Молоко.	Пробы отпыта 20.	Продол. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	4 кап.	1 1/2 м.	свертыв.	40°
2	"	"	1 1/2 м.	"	"
3	"	"	"	"	"
4	"	"	2 мин.	"	"
5	"	"	3 мин.	"	"

Опытъ показываетъ, что въ пробахъ опыта № 20 сычужный ферментъ сохранялъ свою дѣйствующую ферментативную способность.

При этомъ оказалось, что въ пробахъ, реагировавшихъ щелочно, онъ, подвижному, нѣсколько ослабѣлъ въ сравненіи съ первыми тремя пробами.

Опытъ № 22.

Растворъ гетероальбумозы содержалъ 10,8 % сухаго вещества и 1,69 % озота (по Kjeldahl'у).

	Гетеро-альб.	HCl.	Сода.	Сычуж. ферм.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	25 к. с.	0,1 %	0	1 к. с.	23 час.	0	40°
2	"	0,2 %	0	"	"	0	"
3	"	0,3 %	0	"	"	0	"
4	"	0,4 %	0	"	"	0	"
5	"	0,5 %	0	"	"	0	"
6	"	0	0,1 %	"	"	0	"
7	"	0	0,2 %	"	"	0	"
8	"	0	0,3 %	"	"	0	"
9	"	0	0	"	"	0	"

Опытъ № 23.

Растворъ гетероальбумозы былъ тотъ же, что и при предыдущемъ опытѣ.

	Гетеро-альб.	HCl.	Сода.	Сычуж. ферм.	Прод. опыта.	Реакц.	t ⁰
1	25 к. с.	0,1 %	0	1,5 к. с.	24 час.	0	40 ⁰
2	"	0,2 %	0	"	"	0	"
3	"	0,3 %	0	"	"	0	"
4	"	0,4 %	0	"	"	0	"
5	"	0,5 %	0	"	"	0	"
6	"	0	0,1 %	"	"	0	"
7	"	0	0,2 %	"	"	0	"
8	"	0	0,3 %	"	"	0	"
9	"	0	0	"	"	0	"

Итакъ опыты №№ 22 и 23 подтверждаютъ опытъ № 20.

И здѣсь, мнѣ не удалось констатировать возникновенія растворимаго пластеина.

Опытъ № 24.

Контрольный опытъ на цѣлость фермента въ пробахъ опытовъ №№ 22 и 23, — опытъ аналогичный опыту № 21. Для этого опыта бралось по 6 капель отъ пробъ опыта № 22 и по 4 капли отъ пробъ опыта № 23

Температура опыта — 40⁰ С. Паралельно этимъ пробамъ поставлены таковыя съ убитымъ ферментомъ.

Пробы опыта № 22.			Пробы опыта № 23.			
	Молоко.	Продол. опыта.	Реакц.	Молоко.	Продол. опыта.	Реакц.
1	10 к. с.	1 мин.	сверт.	10 к. с.	1 мин.	сверт.
2	"	1 "	"	"	1 мин. 15 сек.	"
3	"	3 "	"	"	2 ¹ / ₂ мин.	"
4	"	10 "	"	"	12 ¹ / ₂ "	"
5	"	2 час.	"	"	2 час.	0
6	"	2 мин.	"	"	2 мин.	сверт.
7	"	8 "	"	"	7 ¹ / ₂ "	"
8	"	2 ч. 4 м.	"	"	1 час. 34 мин.	"
9	"	2 час.	0	"	2 час.	0

Проба № 9 поставлена съ чистымъ молокомъ.

Пробы опыта № 24 показали, что сычужный ферментъ, въ пробахъ опытовъ № 22 и № 23 оставался дѣятельнымъ, при чемъ въ наиболѣе кислыхъ и наиболѣе щелочныхъ, ферментъ значительно ослабѣваетъ, такъ что на основаніи этихъ пробъ можно было предварительно предположить, что растворы, содержащіе 0,4—0,5 % HCl или 0,2—0,3 % соды являются неблагоприятными для дѣятельности этого фермента.

Такимъ образомъ, данныя моихъ опытовъ съ дѣйствіемъ сычужнаго фермента на гетероальбумозу совпадаютъ съ данными Д. Кураева (l. c.) относящихся къ этой альбумозѣ и стоятъ въ противорѣчій съ соотвѣтствующими результатами опытовъ В. Завьялова.

Я полагаю, что этот автор имел дело не с ферментативным осаждением гетероальбумозы, а с высаливанием ее через тѣ соли, которыя онъ имѣлъ въ своемъ препаратѣ сычужнаго фермента. Этотъ препаратъ содержалъ 18,52 % хлористаго натрія. Я, воспроизводя опытъ В. Завьялова съ гетероальбумозою, а именно безъ сычужнаго фермента, съ 18,52 % растворомъ хлористаго натрія; получилъ обильный хлопчатый осадокъ. Опытъ мною былъ сдѣланъ, — соотвѣтственно опыту В. Завьялова такъ: къ 10 к. с. 14,48 %-го раствора гетероальбумозы, содержащаго связанной съ альбумозою 0,33 % HCl, постепенно прибавлялся 18,52 % растворъ NaCl, при прибавленіи 3, 6 куб. с. послѣдняго раствора къ 1-ому началъ возникать осадокъ; при прибавленіи 5 к. с. выпалъ обильный осадокъ.

Подобные, концентрированные растворы гетероальбумозы содержащія больше соляной кислоты — связанной — начинаютъ высаливаться NaCl, при меньшемъ количествѣ послѣдняго. При температурѣ термостата высаливаніе идетъ быстрее, чѣмъ при комнатной, при которой иногда приходится выждать нѣкоторое время.

Опытъ № 25.

Этотъ и слѣдующіе опыты произведены съ фракціею I пептона Witte,

Эта фракція, какъ выше было указано, является протальбумозною фракціею.

Растворъ реагировалъ слабо кисло съ синей лакмусовой бумажкой, содержалъ 19,2 % органическаго вещества и 3,05 % азота (по Kjeldahl'y).

	Прот. альб.	Сыч. ферм.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0,5 к. с.	0	25 час.	0	40°
2	"	"	0	"	0	"
3	"	"	0	"	0	"
4	"	"	0,5 к. с.	"	0	"

Опытъ № 26.

Растворъ альбумозы предидущій. Опытъ поставленъ при различныхъ реакціяхъ пробъ; при прибавленіи HCl или соды, я придерживался выше изложенной схемы.

	Прот. альб.	HCl.	Сода.	Сыч. ферм.	Продол. опыта.	Реакц.	t°
1	15 к. с.	0	0	1 к. с.	23 час.	0	40°
2	"	0,1%	0	"	"	0	"
3	"	0,2%	0	"	"	0	"
4	"	0,3%	0	"	"	0	"
5	"	0,4%	0	"	"	0	"
6	"	0	0,1%	"	"	0	"
7	"	0	0,2%	"	"	0	"
8	"	0	0,3%	"	"	0	"

Оба эти опыта съ этою протальбумозною фракціею показали, что она не реагируетъ съ сычужнымъ ферментомъ, что совпадаетъ съ соотвѣтствующими опытами Д. Курева и стоитъ въ противорѣчій съ результатами соотвѣтственнаго опыта В. Завьялова.

Опыт № 27.

Контрольный опыт "аналогичный" опытам № 21 и № 24. Взято было указанных проб 26 опыта, послѣ 23 часов. стоянія ихъ въ термостатѣ. Помимо этихъ пробъ поставлены таковыя съ убытыми пробами опыта № 26.

	Молоко.	Проба оп. № 26	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	3 кап.	1 мин.	сверт.	40°
2	"	"	1 "	"	"
3	"	"	15 сек.	"	"
4	"	"	4 мин.	"	"
5	"	"	28 "	"	"
6	"	"	1 1/2 "	"	"
7	"	"	2 "	"	"
8	"	"	1 час. 15 сек.	"	"

Изъ опыта видно, что ферментъ въ пробахъ опыта № 26 сохранялся; при чемъ въ пробахъ наиболѣе кислыхъ и наиболѣе щелочныхъ, онъ больше или меньше ослабѣлъ.

Опыт № 28.

Въ этомъ опытѣ были дальнѣйше излѣдованы остатки пробъ опыта № 26. Къ каждой пробѣ прибавлено ещё по 1 1/2 куб. с. сычужнаго фермента.

	Прот. альб.	Сычуж. ферм.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	15 куб. с.	1 1/2 куб. с.	26 час.	0	39°
2	"	"	"	0	"
3	"	"	"	0	"
4	"	"	"	0	"
5	"	"	"	0	"
6	"	"	"	0	"
7	"	"	"	0	"
8	"	"	"	0	"

И при этихъ пробахъ оказалось, что даже весьма значительныя количества сильно дѣйствующаго фермента, не въ состояніи вызвать образованіе „пластеина“ въ растворахъ протальбумозы.

Опыт № 29.

	Прот. альб.	HCl.	Сода.	Сыч. ф.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	15 к. с.	0	0	1 1/2 к. с.	0	23 час.	0	40°
2	"	0,1%	0	"	0	"	0	"
3	"	0,2%	0	"	0	"	0	"
4	"	0,3%	0	"	0	"	0	"
5	"	0,4%	0	"	0	"	0	"
6	"	0	0,1%	"	0	"	0	"
7	"	0	0,2%	"	0	"	0	"
8	"	0	0,3%	"	0	"	0	"
9	молоко 10 куб.	0	0	0,5 к. с.	0	мгновенное свертыван.	"	"

Опыт произведенъ съ болѣе концентрированнымъ растворомъ протальбумозы, а именно содержащимъ 25,35 % органическаго вещества.

Опытъ показываетъ, что даже столь концентрированный растворъ этой протальбумозной фракціи не реагировалъ съ сычужнымъ ферментомъ. Какъ известно, болѣе концентрированные растворы альбумозъ, реагируютъ быстрѣе и легче сычужнымъ ферментомъ.

Опытъ № 30.

Опытъ произведенъ съ 19,2 %-ымъ растворомъ протальбумозы и въ присутствіи CaCl_2 .

	Прот. альб.	HCl.	Сода.	CaCl_2	Сыч. ферм.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	20 к. с.	0	0	0,5 %	2 куб. с.	25 час.	0	40°
2	"	0,1 %	0	"	"	"	0	"
3	"	0,2 %	0	"	"	"	0	"
4	"	0,3 %	0	"	"	"	0	"
5	"	0,4 %	0	"	"	"	0	"
6	"	0	0,1 %	"	"	"	0	"
7	0	0	0,2 %	"	"	"	0	"
8	0	0	0,3 %	"	"	"	0	"
9	молоко 10 куб.	0	0	"	0,5 к. с.	мгновенное свертыван.	"	"

Опытъ показываетъ, что CaCl_2 , столь энергично ускоряющій дѣйствіе сычужнаго фермента на молоко, не оказываетъ никакого замѣтнаго вліянія на дѣйствіе этого фермента на рассматриваемую нами фракцію.

Опытъ № 31.

Опытъ поставленъ на контроль цѣлости сычужнаго фермента, въ пробахъ опыта № 30. Взято было по 2 капли отъ каждой пробы. Опытъ произведенъ съ контролемъ убитыхъ пробъ опыта № 30.

	Молоко.	Проба № 35.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 куб. с.	2 кап.	1 мин.	свертыв.	40°
2	"	"	50 сек.	"	"
3	"	"	1 мин.	"	"
4	"	"	2 1/2 "	"	"
5	"	"	4 "	"	"
6	"	"	2 1/2 "	"	"
7	"	"	7 1/2 "	"	"
8	"	0	1 час.	0	"

Итакъ, протальбумоза, подобно какъ и гетероальбумоза не реагируетъ съ сычужнымъ ферментомъ — не даетъ пластеинового осадка. При всѣхъ пробахъ съ протальбумозою, я не могъ констатировать возникновенія „растворимаго пластеина“ пробы давали при нагрѣваніи resp. кипяченіи, при слабо кислой реакціи, небольшой хлопьевидный осадокъ, зависящій отъ свертывающихся бѣлковъ прибавленнаго сычужнаго фермента.

Чтобы объяснить полученіе нѣкоторыми авторами пластеиновыхъ осадковъ съ растворами протальбумозы, мною были сдѣланы пробы съ высаливаніемъ протальбумозы съ помощью NaCl, какъ при нейтральной, такъ

и при кислой реакции. Пробы были произведены съ 19,8 % раствором протальбумозной фракции; при этомъ оказалось, что при постепенномъ прибавлении 18,52 % раствора NaCl и незначительномъ подкислении сояной кислотой, (безъ наличности свободной HCl) выпадаетъ хлопьевидный осадокъ альбумозного характера.

Такимъ образомъ надо полагать, что болѣе или менѣе крѣпкіе растворы протальбумозъ, могутъ давать осадки, съ болѣе или менѣе значительными количествами, какого-либо раствора сычужнаго фермента, содержащаго большія количества NaCl. Но надо принять во вниманіе, что нѣкоторые препараты протальбумозы могутъ реагировать съ сычужнымъ ферментомъ, — съ образованіемъ пластеинового осадка не черезъ высаливаніе, а вслѣдствіе ферментативнаго дѣйствія, — а именно такіе препараты, которые содержатъ болѣе или менѣе значительную примѣсь, тѣхъ или другихъ дейтероальбумозъ; если получать протальбумозу путемъ простаго фракціонированнаго осажденія какой либо смѣси продуктовъ перевариванія, то та или другая фракція всегда захватываетъ механически, тѣ или другіе продукты дейтероальбумозъ, реагирующіе съ сычужнымъ ферментомъ.

Здѣсь я замѣчу, что и мой препаратъ протальбумозы содержалъ, какъ ниже будетъ выяснено, дѣйтероальбумозъ, но только въ незначительномъ количествѣ.

Опытъ № 32.

Этотъ предварительный опытъ съ фракціею II, а именно съ воднымъ растворомъ содержащимъ 9,44 %

органическихъ веществъ, 1,53 % азота (по Kjeldahl'y) 0,23 % золы. Самыя кислыя и щелочныя пробы были исключены, потому что онѣ, какъ предидущіе опыты показываютъ, разслабляютъ дѣйствіе сычужнаго фермента.

	фр. II.	HCl.	Сода.	Сыч. ферм.	Сыч. ф. убит.	Продол. опыта.	Вр. наст. реакции	t°
1	10 к. с.	0	0	10 кап.	0	23 час.	44 мин.	39°
2	"	>0	0	"	0	"	"	"
3	"	0,1%	0	"	0	"	"	"
4	"	0,2%	0	"	0	"	"	"
5	"	0	>0	"	0	"	0	"
6	"	0	0,1%	"	0	"	0	"
7	"	0	0	0	10 кап.	"	0	"
8	молоко 10 к. с.	0	0	10 кап.	0	мгновенное свертыван.		"

Итакъ, фракція II реагируетъ съ сычужнымъ ферментомъ, давая пластеиновый осадокъ. Опытъ показалъ, что проба № 2, содержащая слѣды свободной HCl, т. е. реагирующая очень слабо съ бумажкою конго, дала самый обильный осадокъ. Щелочныя пробы остались безъ измѣненія, а болѣе кислыя образовали незначительные осадки.

Опытъ № 33.

Къ 250 куб. с. 9,5 %-аго раствора фракціи II, доведеннаго до очень слабой реакціи съ бумажкою конго, прибавлено 12,5 куб. с. раствора сычужнаго фермента. Смѣсь была поставлена въ термостатъ при 39—40°. Минуть черезъ 40 растворъ помутнѣлъ,

черезъ сѧ. 1^{1/2} часа началось осѧданіе осадка. Черезъ 6 часовъ осадокъ совершенно осѧлъ, растворъ, стоящій надъ нимъ, сдѧлся совершенно прозрачнымъ, но смѣсь была тѣмъ не менѣе оставлена въ термостатѣ еще на 18 часовъ. По истеченіи этого времени жидкость была отфильтрована отъ осадка и вновь поставлена въ термостатъ съ новымъ количествомъ фермента, а именно на 20 часовъ. Образование новаго осадка не произошло и жидкость, реагировавшая очень слабо съ конго бумажкой, оставалась по прежнему прозрачной. Образовавшійся отъ перваго прибавленія фермента осадокъ, былъ сперва промытъ взмучиваніемъ съ дистиллированной водою, потомъ на фильтрѣ до полнаго исчезновенія біуретовой реакціи въ промывныхъ филтратяхъ. Промываніе осадка совершалось легко.

Реакціи промытаго осадка:

- 1) р. Миллона — кирпично краснаго цвѣта, довольно интенсивная.
- 2) р. Біуретовая — розово-фіолетовая.
- 3) р. Ксантопротеиновая — средней степени.
- 4) р. Молиша — фіолетовая окраска средней степени.
- 5) р. Адамкевича — розовая окраска средней степени.
- 6) Взмученный въ водѣ осадокъ легко растворяется въ 2 % соляной кислотѣ.
- 7) Взмученный въ водѣ осадокъ очень легко растворяется, при прибавленіи незначительнаго количества разведеннаго раствора ѣдкаго натрія.
- 8) Въ растворѣ углекислаго натрія осадокъ трудно растворяется.

- 9) Щелочной растворъ даетъ съ HNO_3 муть, не растворяющуюся въ избыткѣ кислоты, какъ при нагрѣваніи, такъ и при разбавленіи раствора.
- 10) Изъ щелочныхъ растворовъ осадокъ выпадаетъ при нейтрализаціи ихъ.
- 11) Въ 10 % уксусной кислотѣ осадокъ растворяется, но медленно.
- 12) Въ водныхъ растворахъ NaCl осадокъ растворимъ очень мало.

При этомъ опытѣ было опредѣлено количество азота во взятомъ альбумозномъ растворѣ до дѣйствія фермента и послѣ окончанія реакціи. Послѣ того, какъ совершенно осѧлъ пластеиновый осадокъ. При расчетѣ альбумознаго азота при 2-омъ опредѣленіи были приняты во вниманіе поправки касательно разведенія первоначальнаго альбумознаго раствора растворомъ сычужнаго фермента и касательно азота, внесеннаго въ этотъ первоначальный растворъ съ растворомъ фермента. Для опредѣленія бралось по три параллельныя пробы.

Оказалось, что съ пластеиновымъ осадкомъ первоначальный альбумозный растворъ потерялъ 0,88 % своего общаго количества азота.

Растворимаго пластеина мною не было констатировано и при этомъ опытѣ.

Итакъ, опытъ 33 показываетъ, что

- 1) фракція II реагируетъ съ сычужнымъ ферментомъ, а именно съ образованіемъ пластеиноваго осадка.
- 2) подъ вліяніемъ этого фермента на названную фракцію возникаетъ незначительное количество пластеиноваго осадка.

3) Пластеино - образовательное дѣйствіе сычужнаго фермента протекаетъ сравнительно скоро (но, конечно, много медленнѣе, чѣмъ свертывающее дѣйствіе этого фермента на казеинъ молока) и, по-видимому, съ началомъ осѣданія пластеинового осадка она и заканчивается. Пластеинъ этой фракціи содержитъ 15,31 % азота (по Kjeldahl'y).

Опытъ № 34.

Фильтратъ, полученный отъ пластеинового осадка предидущаго опыта, былъ сгущенъ до 25 % -аго содержанія органическ. веществъ; съ этимъ столь концентрированнымъ растворомъ были поставлены ниже слѣдующія пробы.

	Фр. II.	НСІ.	Сода.	Сыч. ферм.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0	0	10 кап.	0	20 час.	0	39°
2	"	>0	0	"	0	"	0	"
3	"	0,1%	0	"	0	"	0	"
4	"	0,2%	0	"	0	"	0	"
5	"	0	>0	"	0	"	0	"
6	"	0	0	0	10 кап.	"	0	"
7	молоко 10 к. с.	0	0	10 кап.	0	мгновенное свертываніе.	"	"

Элементарный анализъ пластеина этой фракціи далъ слѣдующее:

$$C = 55,219 \%$$

$$H = 7,30 \%$$

Взято для анализа 0,210 грм.-вещества. Получено при сжиганіи съ хромовокислымъ свинцомъ, съ лежащею мѣдною спиралью.

$$CO_2 = 0,4252$$

$$H_2O = 0,1371$$

Такимъ образомъ этотъ опытъ можетъ продемонстрировать, что тѣ или другіе продукты перевариванія бѣлковыхъ веществъ, способны реагировать на пластеино-образовательное дѣйствіе сычужнаго фермента. Въ присутствіи нѣкоторыхъ продуктовъ перевариванія альбумознаго характера, этой реакціи не получается.

Принимая во вниманіе, что фракція II не была мною подвергнута очисткѣ, равно какъ, что она реагировала съ сычужнымъ ферментомъ весьма слабо, я полагаю, что эта фракція, еслибъ она была очищена, не реагировала бы на пластеино-образовательное дѣйствіе этого фермента. Во всякомъ случаѣ главнѣйшія составныя части этой фракціи являются таковыми продуктами перевариванія дейтероальбумознаго характера, которые не реагируютъ на рассматриваемое нами дѣйствіе сычужнаго фермента.

Растворы уже больше не дѣйствующие съ сычужнымъ ферментомъ содержатъ какъ ниже будетъ показано тѣмъ не менѣе вещество реагирующее съ этимъ ферментомъ.

Опытъ № 35.

Предварительный опытъ съ фракціею III.

Растворъ фракціи III содержалъ органическихъ веществъ: 15,5 % золы 0,188 %, азота 2,51 % (по Kjeldahl'y).

	Фр. III.	HCl.	Сода.	Сыч. ферм.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0	0	15 кап.	0	24 час.	чер. 39 мин.	39°
2	"	>0	0	"	0	"	чер. 35 мин.	"
3	"	0,1%	0	"	0	"	38 "	"
4	"	0,2%	0,05%	"	0	"	39 "	"
5	"	0	0	"	0	"	0	"
6	"	0	0	0	15 кап.	"	0	"
7	молоко 10 к. с.	0	0	15 кап.	0	мгновенное свертывание		"

Предварительный опыт показалъ, что наилучшей реакціей для сычужнаго фермента являются слѣды свободной соляной кислоты.

Опытъ № 36.

300 куб. сант. раствора альбумозъ фракціи III, подкисленные HCl до появленія слабой реакціи съ бумажкой конго, были смѣшаны съ 15 куб. с. сычужнаго фермента и поставлены въ термостатъ при температурѣ 39° на 26 часовъ. Реакція начала появляться спустя са. 35 минутъ, т. е. черезъ 35 мин. жидкость начала замѣтно мутнѣть, черезъ 2 часа началось осѣданіе осадка, которое послѣ 5 1/2 часовъ кончилось. По истеченіи 26 часовъ пластеиновый осадокъ былъ отдѣленъ фильтрованіемъ и фильтратъ вторично поставленъ въ термостатъ съ новой порціей сычужнаго фермента на 24 часа. Осадка отъ вторичнаго при-

бавленія фермента не образовалось, реакція оставалась прежнею. Образовавшийся отъ перваго прибавленія фермента осадокъ, былъ промытъ перегнанной водой, до исчезновенія въ фильтратѣ біуретовой реакціи. Въ этой фракціи было произведено опредѣленіе азота, до дѣйствія сычужнаго фермента и послѣ этого дѣйствія. Опредѣленіе производилось по Kjeldahl'у, какъ при фракціи II, съ тѣми же поправками. Оказалось, что потеря азота послѣ дѣйствія фермента была равна 1,0038%. Полученный промытый пластеиновый осадокъ былъ высушенъ при t° 105—107° до постоянного вѣса.

По своимъ реакціямъ, а именно какъ по цвѣтовымъ реакціямъ, такъ и по реакціямъ растворимости, это пластеиновое вещество оказалось тождественнымъ съ пластеиновымъ веществомъ, полученнымъ съ фракціею II. Оно содержало 15,35% азота (по Kjeldahl'у).

Количественное опредѣленіе C и H въ немъ не было сдѣлано, за недостаткомъ матеріала.

Опытъ № 37.

Фильтратъ полученный отъ пластеинового осадка опыта № 36, былъ сгущенъ до 25,8% содержанія органическаго вещества. Для испытанія былъ поставленъ рядъ нижеуказанныхъ пробъ.

1) Итакъ, реакція этой фракціи съ сычужнымъ ферментомъ довольно слабая, если это судить по образовавшемуся при этой реакціи осадку.

2) Прореагировавший съ первою порціею сычужнаго фермента растворъ этой фракціи не реагировалъ, видимо, при дальнѣйшемъ прибавленіи къ нему этого фермента.

	Фр. III.	HCl.	Сода.	Сыч. ферм.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0	0	15 кап.	0	23 $\frac{1}{2}$ ч.	0	40°
2	"	>0	0	"	0	"	0	"
3	"	0,1%	0	"	0	"	0	"
4	"	0,2%	0	"	0	"	0	"
5	"	0,3%	0	"	0	"	0	"
6	"	0	>0	"	0	"	0	"
7	"	0	0,1%	"	0	"	0	"
8	"	0	0	0	15 кап.	"	0	"
9	молоко 10 к. с.	0	0	15 кап.	0	мгновенное свертыван.	"	"

Здѣсь же я долженъ предварительно замѣтить, что фильтратъ отъ вышеописаннаго пластеинового осадка фр. III, содержалъ однако вещество реагирующее на пластеинообразовательное дѣйствіе сычужнаго фермента.

Я полагаю, что фракція III реагировала съ сычужнымъ ферментомъ, на столь слабо вѣроятно благодаря тому, что она не была достаточно очищена отъ пластеиногенныхъ веществъ. Итакъ, наибольшая составная часть (resp. главн. составныя части) этой дейтероальбумозной фракціи не реагируетъ съ сычужнымъ ферментомъ. При вышеописанныхъ опытахъ съ фракціею III я не могъ констатировать возникновенія «растворимаго пластеина».

Опытъ № 38.

Растворъ фракціи IV (пептона Witte), содержащій 11,4 % сухаго остатка, 1,77 % азота (по Кје-

да h'l'y) и слѣд. золы, былъ подвергнутъ предварительному испытанію.

	Фр. IV.	HCl.	Сода.	Сыч. ферм.	Сыч. ф. убит.	Продол. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0	0	15 кап.	0	22 час.	мал. осадок.	40°
2	"	>0	0	"	0	"	"	"
3	"	0,1%	0	"	0	"	"	"
4	"	0,2%	0	"	0	"	"	"
5	"	0,3%	0	"	0	"	"	"
6	"	0,4%	0	"	0	"	0	"
7	"	0	>0	"	0	"	0	"
8	"	0	0,1%	"	0	"	0	"
9	"	0	0	0	15 кап.	"	0	"
10	молоко 10 к. с.	0	0	15 кап.	0	мгновенное свертыв.	"	"

Итакъ, эта дейтероальбумозная фракція почти не реагируетъ на пластеинообразовательное дѣйствіе сычужнаго фермента, тѣмъ не менѣе послѣ дѣйствія сычужнаго фермента на эту фракцію, вещество, реагирующее съ послѣднимъ, остается еще въ достаточномъ количествѣ.

Опытъ № 39.

Контрольный опытъ на цѣлость фермента при опытѣ № 38. Для этого опыта взято, по 4 капли отъ каждой пробы опыта № 38, пробывшихъ въ термостатѣ сѣ. 22 часа. Помимо этого поставлены контрольныя пробы съ убитыми пробами опыта № 38.

	Молоко.	Оп. № 38.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 куб. с.	4 кап.	1 мин.	сверт.	40°
2	"	"	"	"	"
3	"	"	"	"	"
4	"	"	1 мин. 40 сек.	"	"
5	"	"	4 " 20 "	"	"
6	"	"	2 час.	"	"
7	"	"	2 мин.	"	"
8	"	"	5 "	"	"
9	"	"	2 час.	0	"
10	"	0	2 "	0	"

Опыт показывает наглядно, что ферментъ сохранялъ въ пробахъ опыта № 38 свою силу.

Опытъ № 40.

Предварительный опытъ съ растворомъ фракціи V, (пептона Witte) для нахождения наилучшихъ условій возникновенія реакціи съ сычужнымъ ферментомъ.

Этотъ растворъ содержалъ 9,4 сухаго остатка и 1,48 % азота (по Kjeldahl'у); золы въ немъ находились только слѣды.

Предварительный опытъ съ этою фракціею, какъ и съ другими фракціями, показалъ, что наиболѣе обильный осадокъ возникаетъ во 2-ой пробѣ.

	Фр. V.	HCl.	Сода.	Сыч. ферм.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0	0	10 кап.	0 кап.	22 час.	ч. 25 м. муть	39°
2	"	>0	0	"	0	"	"	"
3	"	0,1 %	0	"	0	"	"	"
4	"	0,2 %	0	"	0	"	ч. 35 м. муть	"
5	"	0,3 %	0	"	0	"	"	"
6	"	0	>0	"	0	"	0	"
7	"	0	0,1 %	"	0	"	0	"
8	"	0	0	0	10 кап.	"	0	"
9	молоко 10 к. с.	0	0	10 кап.	0		мгновенное свертыван.	"

Опытъ № 41.

350 куб. с. 9,4 % раствора фракціи V, послѣ доведенія до слабой реакціи съ бумажкой конго и прибавленія 17,5 куб. с. сычужнаго фермента, поставлены въ термостатъ, при температурѣ 38,5° на 25 часовъ. По истеченіи 26 минутъ жидкость помутнѣла, а черезъ часъ и 25 минутъ началъ осѣдаться осадокъ. Черезъ 6 часовъ осажденіе закончилось. По истеченіи 25 часовъ, жидкость была отдѣлена фильтрованіемъ отъ осадка и фильтратъ съ новымъ такимъ же количествомъ сычужнаго фермента былъ поставленъ въ термостатъ на 22 часа. Отъ вторичнаго прибавленія возникали слѣды осадка, количество котораго не было опредѣлено. Осадокъ возникшій отъ перваго прибавленія сычужнаго фермента, промывался

дистиллированной водой, до исчезновения биуретовой реакции в промывных водах, был высушен при температурѣ 105—108° до постоянного вѣса. В данномъ растворѣ альбумозъ былъ определенъ азотъ, какъ до дѣйствія сычужнаго фермента, такъ и послѣ этого дѣйствія (— съ выше упомянутыми поправками) послѣ дѣйствія сычужнаго фермента азотъ уменьшился противъ первоначальнаго его содержанія на 1,622 % (по Kjeldahl'y). Пластеинъ этой фракціи содержалъ 15,33 % азота (по Kjeldahl'y).

Пластеиновый осадокъ этой фракціи обнаружилъ тѣже реакціи цвѣтоты и реакціи растворимости какія были отмѣчены относительно пластеиновыхъ осадковъ предидущихъ фракціи.

Касательно пластеиногенной реакціи этой фракціи можно отмѣтить тоже, въ общихъ чертахъ, что было мною отмѣчено относительно предидущихъ фракціи, что вещество реагирующее съ сычужнымъ ферментомъ остается и послѣ дѣйствія послѣдняго въ опытныхъ растворахъ. При опытахъ съ этой фракціей, я не могъ констатировать возникновенія „растворимаго пластеина“.

Опытъ № 42.

Предидущіе опыты показали, что присутствіе слѣдовъ свободной HCl являются самымъ выгоднымъ для реакціи съ сычужнымъ ферментомъ; потому и при этомъ опытѣ было прямо приступлено къ главному опыту, безъ предварительныхъ пробъ, при соблюденіи вышесказанныхъ условий.

Для опыта использована фракція VI, (пептона

Witte), содержащая 10,1 % сухаго остатка, 1,47 % азота (по Kjeldahl'y) и слѣдовы зола.

200 куб. с. такого раствора, по прибавленіи къ нему 10 куб. с. сычужнаго ферм., поставлены въ термостатъ при 39°. Черезъ 3½ минуты смѣсь помутнѣла, черезъ часъ началось осѣданіе осадка. Послѣ 23 часоваго стоянія въ термостатѣ, жидкость фильтрованіемъ была отдѣлена отъ осадка и поставлена съ новой порціей этого фермента на 20 часовъ въ термостатъ, при чемъ вновь возникъ осадокъ, который былъ отфильтрованъ. Новый фильтратъ третій разъ былъ поставленъ съ вновь прибавленнымъ сычужнымъ ферментомъ на 20 часовъ. Послѣ этого третьяго прибавленія образовался лишь небольшой осадокъ. Осадки всѣхъ фильтратовъ соединены вмѣстѣ, промыты водой до исчезновенія биуретовой реакціи и высушены при температурѣ 105—107° до постоянного вѣса.

Послѣдовательныя определенія азота въ первоначальномъ растворѣ фракціи VI — съ одной стороны, и въ послѣдующихъ фильтратахъ — съ другой стороны, показали, что съ 1-ымъ пластеиновымъ осадкомъ выдѣлилась 22,9 % азота (— считая на общее количество альбумознаго азота взятаго раствора), со вторымъ — 3,4 % и съ третьимъ — 0,67 %.

„Пластеинъ“ фракціи VI.

Реакціи.

- | | |
|-------------------------|----------------|
| 1) р. Биуретовая | } интензивный. |
| 2) р. Миллона | |
| 3) р. Адамкевича | |
| 4) р. Ксантопротеиновая | |

- 5) Растворяется легко въ присутствіи NaOH, при нейтрализаціи такихъ растворовъ выпадаетъ хлопьевидный осадокъ.
- 6) Въ HNO₃ не растворяется.
- 7) Въ растворахъ NaCl не растворяется.
- 8) Въ слабыхъ растворахъ HCl не растворяется.
- 9) Углекислая сода медленно растворяетъ съ опалесценціей.
- 10) Въ 10 % уксусной кислотѣ мало растворяется.
- 11) Молиша реакціи не даетъ.

Азотъ былъ въ этомъ пластеинѣ по Kjeldahl'у опредѣленъ, его оказалось 14,3 %.

Элементарные анализы альбумозъ фракціи VI, какъ и пластеина этой фракціи:

„Пластеинъ“ фракціи VI.

Анализъ I.

Взято 0,203 вещества.

$$\begin{aligned} \text{Найдено} &= 0,4142 \text{ CO}_2 = 0,11273 \text{ C} \\ &= 55,532 \% \text{ C.} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{O} &= 0,136 = 0,01511 \text{ H} \\ &= 7,044 \% \text{ H.} \end{aligned}$$

Анализъ II.

Взято 0,22 вещества.

$$\begin{aligned} \text{Найдено} &= 0,4501 \text{ CO}_2 = 0,12275 \text{ C} \\ &= 55,795 \% \text{ C.} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{O} &= 0,1429 = 0,01587 \text{ H} \\ &= 7,21 \% \text{ H.} \end{aligned}$$

Анализъ III.

Взято 0,219 вещества.

$$\begin{aligned} \text{Найдено } 0,4353 \text{ CO}_2 &= 0,11871 \text{ C} \\ &= 55,732 \% \text{ C.} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{O} &= 0,1361 = 0,01512 \text{ H} \\ &= 7,0985 \% \text{ H.} \end{aligned}$$

Анализъ IV.

Взято 0,2014 вещества.

$$\begin{aligned} \text{Найдено } 0,4116 \text{ CO}_2 &= 0,11225 \text{ C} \\ &= 55,754 \% \text{ C.} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{O } 0,1328 &= 0,01475 \text{ H} \\ &= 7,32 \% \text{ H.} \end{aligned}$$

Сѣра въ этомъ пластеинѣ опредѣлена по Либиху:

Взято 1,012 вещества.

$$\begin{aligned} \text{Найдено} &= 0,0963 \text{ BaSO}_4 = 0,0113203 \text{ S} \\ &= 1,304 \% \text{ S.} \end{aligned}$$

Среднее изъ 4 опредѣленій.

$$\text{C} = 55,703 \%$$

$$\text{H} = 7,116 \%$$

$$\text{S} = 1,304 \%$$

$$\text{N} = 14,3 \%$$

Анализъ фракціи VI.

Фракція VI, высушенная при 105—110° до постоянного вѣса, была подвергнута элементарному анализу.

Анализъ I.

Взято 0,216 вещества.

$$\begin{aligned} \text{Найдено } 0,4001 \text{ CO}_2 &= 0,1090936 \dots \text{ C} \\ &= 50,506 \% \text{ C.} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{O} - 0,1402 &= 0,01557 \text{ H} \\ &= 7,208 \% \text{ H.} \end{aligned}$$

Анализъ II.

Взято 0,209 вещества.

$$\begin{aligned} \text{Найдено } 0,3855 \text{ CO}_2 &= 0,105136 \dots \text{ C} \\ &= 50,304 \% \text{ C} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{O} - 0,1389 &= 0,01543 \text{ H} \\ &= 7,382 \% \text{ H,} \end{aligned}$$

Среднее изъ двухъ опредѣленій.

$$\text{C} = 50,406 \%$$

$$\text{H} = 7,295 \%$$

Касательно фракціи VI нужно отмѣтить, что фильтраты, полученные послѣ 2 первыхъ осажденій съ сычужнымъ ферментомъ, не реагировали на молоко, но полученные при этомъ осадка, взмученные съ водой, свертывали казеинъ молока. Нужно полагать, что обильные осадки, образовавшіеся при первыхъ 2 прибавленіяхъ фермента, увлекли механически ферментъ съ собою.

Фракція VI отличается отъ всѣхъ предидущихъ фракцій по своей энергичной реакціи съ сычужнымъ ферментомъ. Нужно полагать, что 5 предидущихъ

фракціи реагировали съ сычужнымъ ферментомъ, только благодаря примѣси фракцій VI.

Пластеинъ этой фракціи отличается по реакціямъ цвѣтовымъ и осадочнымъ отъ пластеиновъ другихъ фракцій, главнѣйшимъ образомъ только тѣмъ, что не даетъ реакціи Молиша. Я долженъ замѣтить, что онъ нѣсколько труднѣе растворяется въ растворахъ соды, углекислой. Я полагаю, что пластеины другихъ фракцій давали реакціи Молиша, вѣроятно вслѣдствіи примѣси (очень незначительной), веществъ реагирующихъ по Молишу.

Пластеинъ фракціи VI по своей растворимости отличается, какъ отъ нативныхъ альбуминовъ и глобулиновъ, такъ и отъ извѣстныхъ намъ продуктовъ перевариванія.

По своему элементарному анализу, пластеинъ этой фракціи рѣзко отличается, какъ отъ извѣстныхъ намъ нативныхъ бѣлковъ, такъ и отъ извѣстныхъ намъ продуктовъ перевариванія этихъ веществъ: онъ содержитъ гораздо больше углерода и гораздо меньше азота, чѣмъ нативныя, бѣлковая вещества и продукты перевариванія послѣднихъ. Д. Кураевъ, какъ и М. Лаврова и Салазкинъ полагаютъ, что пластеинообразовательное дѣйствіе сычужнаго фермента не можетъ быть разсматриваемо, какъ регенеративный процессъ. Такимъ образомъ на основаніи своихъ опытныхъ данныхъ, касательно сущности разсматриваемаго нами дѣйствія сычужнаго фермента, не могу присоединиться къ мнѣніямъ Окунева, Д. Лаврова и В. Завьялова. Первые два изъ трехъ послѣднихъ авторовъ видятъ въ этой реакціи альбуминизацію продуктовъ перевариванія, послѣдній же регенерацию въ глобулиноподобное вещество.

Не предрѣшая вопросъ о томъ, есть ли это дѣйствіе сычужнаго фермента аналитическое или синтетическое, но во всякомъ случаѣ здѣсь не имѣется процесса образованія „пластеина“, — то есть продукта, который по мнѣнію В. Завьялова обладаетъ особенною способностью со стороны животнаго организма служить послѣдному для пластики. Вѣдь надо принять во вниманіе, что пластеинъ обладаетъ очень плохую растворимостью въ сокахъ тканей животнаго организма.

Я думаю, что наиболѣе соотвѣтствующимъ названіемъ для такихъ осадковъ представляется наименованіе, данное имъ Д. Кураевымъ, а именно коагулёза.

Дѣлая общія заключенія относительно дѣйствія сычужнаго фермента на вышеупомянутыя фракціи пептона Witte можно замѣтить слѣдующее:

- 1) Эти фракціи представляющія предъ собою различныя альбумозы, а именно, начиная съ гетероальбумозы и кончая дейтероальбумозами, обнаруживаютъ между собою рѣзкую разницу, касательно ихъ реакціи на коагулирующее дѣйствіе сычужнаго фермента: инья изъ нихъ, а именно гетероальбумоза и протальбумоза совершенно не реагируютъ на разсматриваемое дѣйствіе этого фермента; другія — фракція II — фракція V, образуютъ подъ вліяніемъ сычужнаго фермента только весьма незначительныя количества коагулёзъ, („пластеиновъ“). Количество послѣднихъ обуславливается отъ примѣси большаго или меньшаго количества къ нимъ (фракціямъ) фракціи VI.

- 2) Альбумозы, способныя коагулироваться подъ вліяніемъ сычужнаго фермента, являются, какъ видно изъ осадочныхъ реакцій фракціи VI, продуктами перевариванія дейтероальбумознаго характера, отличающимися только своею болѣе легкою высаливаемостью хлористымъ натріемъ отъ другихъ дейтероальбумозъ.
- 3) Коагулёзы, возникающія въ растворахъ альбумозъ подъ вліяніемъ сычужнаго фермента, не обладаютъ свойствами какихъ-либо продуктовъ перевариванія бѣлковыхъ веществъ, ни свойствами глобулиновъ и альбуминовъ, ни свойствами свернутыхъ нативныхъ бѣлковъ, такъ что онъ являются по растворимости веществами, *sui generis*.
- 4) Коагулёзы по своему элементарному составу являются веществами какой то особой группой бѣлковыхъ тѣлъ.

Къ вышеуказанному относительно количественной стороны возникновенія коагулёзы изъ фракціи VI могу прибавить, что эта фракція подвергнутая 2-кратной очисткѣ (эфиромъ и спиртомъ), реагировала гораздо интензивнѣе съ сычужнымъ ферментомъ; количество азота выпадавашаго вмѣстѣ съ коагулёзой, достигло до 38 % общаго азота, бывшаго въ растворѣ означенной очищенной фракціи.

Вещество (resp. вещества), реагирующее наиболѣе интензивно на коагулирующее дѣйствіе сычужнаго фермента, легко переходитъ въ растворъ смѣси алкоголя и эфира. (10 част. 75 % алкоголя са. 6 частей эфира).

Опыты съ амфопептонами.

Опытъ № 43.

Этотъ опытъ былъ произведенъ съ вышеописаннымъ амфопептономъ, полученнымъ при короткомъ перевариваніи яичнаго альбумина. Растворъ содержалъ 12,1 сухого вещества, 1,638 % азота (по Kjeldahl'y).

	Амфопептон.	HCl.	Угл. сода.	Сыч. ферм.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0	0	15 кап.	0	25 ч.	0	38°
2	"	>0	0	"	0	"	0	"
3	"	0,1%	0	"	0	"	0	"
4	"	0,2%	0	"	0	"	0	"
5	"	0,3%	0	"	0	"	0	"
6	"	0	>0	"	0	"	0	"
7	"	0	0,1%	"	0	"	0	"
8	"	0	0,2%	"	0	"	0	"
9	"	0	0	"	15 кап.	"	0	"
10	молоко 10 к. с.	0	0	15 кап.	0	мгновенное свертываніе.	"	"

Опытъ № 44.

Контрольный опытъ касательно цѣлости сычужнаго фермента въ пробахъ опыта № 42. Изъ пробъ предыдущаго опыта было взято, послѣ того, какъ онѣ пробыли 25 часовъ въ термостатѣ, по 4 капли изъ

каждой пробы, для испытанія на молоко. Рядомъ съ этимъ опытомъ продѣланъ таковой съ убитыми пробами.

№ проб. 42.	Молоко.	№ 42.	Продол. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	4 кап.	1 мин.	сверт.	40°
2	"	"	45 сек.	"	"
3	"	"	1½ мин.	"	"
4	"	"	1 мин. 45 сек.	"	"
5	"	"	8 мин.	"	"
6	"	"	1½ "	"	"
7	"	"	3 "	"	"
8	"	"	9 "	"	"
9	"	0	1 час.	0	"

Итакъ, опытъ № 42 показываетъ, что данный амфопептонъ не реагируетъ на коагулирующее дѣйствіе сычужнаго фермента. Далѣе какъ изъ контрольнаго опыта № 44 видно, ферментъ въ продолженіи опыта № 43 сохранялъ свою коагулирующую силу, только наиболѣе кислая и щелочная пробы показали нѣкоторое ослабѣваніе.

Опытъ № 45.

Опытъ произведенъ съ амфопептономъ, полученнымъ вышеописаннымъ образомъ, при долгомъ перевариваніи яичнаго бѣлка. Испытуемый растворъ со-

держалъ 13,8 % сухого остатка и 1,743 % азота (по Kjeldahl'у).

	Амфопептон.	HCl.	Угл. сода.	Сыч. ферм.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0	0	15 кап.	0	25 час.	0	40°
2	"	>0	0	"	0	"	0	"
3	"	0,1%	0	"	0	"	0	"
4	"	0,2%	0	"	0	"	0	"
5	"	0,3%	0	"	0	"	0	"
6	"	0	>0	"	0	"	0	"
7	"	0	0,1%	"	0	"	0	"
8	"	0	0,2%	"	0	"	0	"
9	"	0	0	0	15 кап.	"	0	"
10	молоко 10 к. с.	0	0	15 кап.	0	мгновенное свертывание		"

Итакъ, этотъ опытъ показываетъ, что данный амфопептонъ совершенно не реагируетъ на свертывающее дѣйствіе сычужнаго фермента,

Опытъ № 46.

Контрольный опытъ на цѣлость фермента въ пробахъ опыта № 45. Опытъ произведенъ подобно предыдущимъ таковымъ опытамъ.

Итакъ, въ пробахъ опыта № 45 сычужный ферментъ сохранялъ свою дѣйствующую способность до конца опыта. Въ наиболѣе кислыхъ и наиболѣе

щелочныхъ пробахъ опыта онъ оказался ослабленнымъ.

№ проб. оп. 45.	Молоко.	№ 45.	Продол. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	4 кап.	1 мин.	сверт.	40°
2	"	"	50 сек.	"	"
3	"	"	1 мин.	"	"
4	"	"	25 сек.	"	"
5	"	"	2 мин.	"	"
6	"	"	8 ¹ / ₂ "	"	"
7	"	"	1 ¹ / ₂ "	"	"
8	"	"	2 ¹ / ₂ "	"	"
9	"	"	10 "	"	"
10	"	"	1 час.	0	"
	"	0	1 "	0	"

Съ амфопептономъ долгаго перевариванія, какъ видно по вышепродѣланнымъ опытамъ, получены тѣ же самые результаты, какъ и съ амфопептономъ короткаго перевариванія.

Опытъ № 47.

Опытъ произведенъ съ растворомъ вышеописаннаго амфопептона приготовленнаго изъ пептона Witte. Растворъ его содержалъ 10 % сухого остатка.

Опытъ № 47 показалъ, что и этотъ амфопептонъ не реагируетъ на коагулирующее дѣйствіе сычужнаго фермента.

	Амфопетон.	HCl.	Угл. сода.	Сыч. ферм.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0	0	15 кап.	0	23 час.	0	39°
2	"	>0	0	"	0	"	0	"
3	"	0,1%	0	"	0	"	0	"
4	"	0	>0	"	0	"	0	"
5	"	0	0,1%	"	0	"	0	"
6	"	0	0	0	15 кап.	"	0	"
7	молоко 10 к. с.	0	0	15 кап.	0	мгновенное свертыван.		"

Опыт № 48.

Контрольный опыт на цѣлость сычужнаго фермента въ пробахъ преридушаго опыта. Опытъ произведенъ аналогично другимъ вышеописаннымъ подобнымъ контрольнымъ опытамъ.

Проба опт. 47.	Молоко.	№ 47.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 куб. с.	4 кап.	1 мин.	сверт.	40°
2	"	"	1 "	"	"
3	"	"	1 1/2 "	"	"
4	"	"	1 1/2 "	"	"
5	"	"	2 1/2 "	"	"
6	"	"	1 час.	0	"
	"	0	1 "	0	"

Итакъ, вышеприведенные опыты съ амфопептонами показали, что амфопептонъ, будь онъ короткаго перевариванія

будь онъ долгаго перевариванія, совершенно не реагируетъ на коагулирующее дѣйствіе сычужнаго фермента. Такимъ образомъ мои опытные данныя касательно дѣйствія сычужнаго фермента на амфопептонъ, вполне совпадаютъ съ аналогичными данными Д. Лаврова и стоятъ въ противорѣчій съ данными В. Завьялова, надо впрочемъ замѣтить, что послѣдній названный авторъ, получилъ съ своимъ препаратомъ амфопептона только незначительное количество пластеина.

Принимая, что амфопептонъ является смѣсью различныхъ продуктовъ перевариванія, не осаждающихся $(NH_4)_2SO_4$, и предполагая, что въ этой смѣси могли быть вещества, которая способны образовывать осадки съ сычужнымъ ферментомъ, но которые не обнаружили этой реакціи, можетъ быть только вслѣдствіи наличности другихъ составныхъ частей амфопептона, не реагирующихъ съ сычужнымъ ферментомъ, въ тоже время, задерживающихъ коагулирующее дѣйствіе этого фермента. Я изъ своихъ амфопептоновъ получалъ эфирно-алкогольныя вытяжки, (приготовленн. какъ фракція VI пептона Witte), но послѣднія не показали коагулирующаго дѣйствія при дѣйствіи на нихъ сычужнаго фермента.

Опыты съ антипептонами.

Опыт № 49.

Настоящій опытъ продѣланъ съ вышеописаннымъ антипептономъ, приготовленнымъ изъ глобулиновъ лошадиной кровяной сыворотки кратковременнаго перевариванія. (Растворъ антипептона содержалъ 18,2% сухого вещества и 2,48% азота (по Kjeldahl'y).

	Анти-пепт.	HCl.	Угл. сода	Сыч. ферм.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0	0	15 кап.	0	24 час.	0	39°
2	"	>0	0	"	0	"	0	"
3	"	0,1%	0	"	0	"	0	"
4	"	0,2%	0	"	0	"	0	"
5	"	0,3%	0	"	0	"	0	"
6	"	0	>0	"	0	"	0	"
7	"	0	0,1%	"	0	"	0	"
8	"	0	0,2%	"	0	"	0	"
9	"	0	0	0	15 кап.	"	0	"
10	молоко 10 к. с.	0	0	15 кап.	0	мгновенное свертыван.		"

Опыт № 50.

Контрольный опыт на цѣлость фермента въ пробахъ послѣдняго опыта.

Проб. оп. 49.	Молоко.	№ 49.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	4 кап.	1 мин.	сверт.	40°
2	"	"	1 "	"	"
3	"	"	1 "	"	"
4	"	"	2 "	"	"
5	"	"	4 ¹ / ₂ "	"	"
6	"	"	1 ¹ / ₂ "	"	"
7	"	"	4 "	"	"
8	"	"	15 "	"	"
9	"	"	1 час.	0	"
	"	0	1 "	0	"

Итакъ, антипептонъ, полученный изъ глобулиновъ лошадиной кровяной сыворотки при короткомъ перевариваніи, относится индифферентно къ коагулирующему дѣйствию сычужнаго фермента. Изъ этого антипептона была получена эфирно-алкогольная вытяжка (какъ фракція VI при пептонѣ Witte). Оказалось, что эта вытяжка тоже совершенно не реагируетъ на коагулирующее дѣйствию сычужнаго фермента.

Опыт № 51.

Опытъ произведенъ съ вышеописаннымъ антипептономъ, приготовленнымъ изъ глобулиновъ лошадиной кровяной сыворотки долгаго перевариванія. Въ испытуемомъ растворѣ было сухого остатка 19,3%, азота 2,854% (по Kjeldahl'у).

	Анти-пепт.	HCl.	Угл. сода.	Сыч. ферм.	Сыч. ф. убит.	Под. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0	0	15 кап.	0	26 час.	0	39°
2	"	>0	0	"	0	"	0	"
3	"	0,1%	0	"	0	"	0	"
4	"	0,2%	0	"	0	"	0	"
5	"	0,3%	0	"	0	"	0	"
6	"	0	>0	"	0	"	0	"
7	"	0	0,1%	"	0	"	0	"
8	"	0	0,2%	"	0	"	0	"
9	"	0	0	0	15 кап.	"	0	"
10	молоко 10 к. с.	0	0	"	0	мгновенное свертыван.		"

Опыт № 52.

Контрольный опыт на цѣлость сычужнаго фермента въ пробахъ предидущаго опыта. Было взято по 4 капли отъ каждой изъ пробъ предидущаго опыта.

Проб. оп. 51.	Молоко.	№ 51.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	4 кап.	1 1/2 мин.	сверт.	40°
2	"	"	1 1/2 "	"	"
3	"	"	1 1/2 "	"	"
4	"	"	3 "	"	"
5	"	"	8 "	"	"
6	"	"	2 "	"	"
7	"	"	5 "	"	"
8	"	"	23 1/2 "	"	"
9	"	"	1 час.	0	"
	"	0	1 "	0	"

Итакъ, антипептонъ, полученный изъ глобулиновъ при долгомъ перевариваніи, далъ отрицательные результаты на коагулирующее дѣйствіе сычужнаго фермента. Эфирно-алкогольныя вытяжки этого антипептона тоже не обнаружили никакой реакціи съ сычужнымъ ферментомъ.

Опыт № 53.

Опытъ произведенъ съ вышеописаннымъ антипептономъ сывороточныхъ бѣлковъ, полученнымъ при короткомъ перевариваніи. Испытуемый растворъ этого

антипептона содержалъ: сухого вещества — 24,8 %; азота — 3,786 % (по Kjeldahl'y).

	Антипепт.	HCl.	Угл. сода.	Сыч. ф.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0	0	15 кап.	0	23 час.	0	39°
2	"	> 0	0	"	0	"	0	"
3	"	0,1 %	0	"	0	"	0	"
4	"	0,2 %	0	"	0	"	0	"
5	"	0,3 %	0	"	0	"	0	"
6	"	0	> 0	"	0	"	0	"
7	"	0	0,1 %	"	0	"	0	"
8	"	0	0,2 %	"	0	"	0	"
9	"	0	0	0	15 кап.	"	0	"
10	молоко 10 к. с.	0	0	15 кап.	0	мгновенное свертываніе		"

Опыт № 54.

Контрольный опыт на цѣлость фермента въ пробахъ послѣдняго опыта.

Пробы оп. 53.	Молоко.	№ 53.	Продол. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	4 кап.	1 мин.	Сверт.	40°
2	"	"	50 сек.	"	"
3	"	"	2 1/2 мин.	"	"
4	"	"	6 "	"	"
5	"	"	9 мин. 15 сек.	"	"
6	"	"	4 мин.	"	"
7	"	"	16 1/2 "	"	"
8	"	"	1 часъ 3 минуты	"	"
9	"	"	1 1/2 час.	0	"
	0	"	1 1/2 "	0	"

Итакъ, какъ показываетъ опытъ № 53, антипептонъ, полученный изъ сывороточныхъ бѣлковъ при кратковременномъ перевариваніи, не реагировалъ на коагулирующее дѣйствіе сычужнаго фермента.

Приготовленная изъ него эфирно алкогольная вытяжка тоже реакцій не показала.

Опытъ № 55.

Опытъ произведенъ съ вышеописаннымъ антипептономъ сывороточныхъ бѣлковъ, полученнымъ при долгомъ перевариваніи. Растворъ антипептона содержалъ 29,4% сухого вещества и 4,182% азота (по Kjeldahl'у).

	Антипепт.	HCl.	Сода.	Сыч. ф.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	40°
1	10 к. с.	0	0	15 кап.	0	25 час.	0	40°
2	"	>0	0	"	0	"	0	"
3	"	0,1%	0	"	0	"	0	"
4	"	0,2%	0	"	0	"	0	"
5	"	0,3%	0	"	0	"	0	"
6	"	0	>0	"	0	"	0	"
7	"	0	0,1%	"	0	"	0	"
8	"	0	0,2%	"	0	"	0	"
9	"	0	0	0	15 кап.	"	0	"
10	молоко 10 к. с.	0	0	15 кап.	0	мгновенное свертываніе		"

Опытъ № 56.

Контрольный опытъ на цѣлость фермента въ пробахъ послѣдняго опыта.

Пробы оп. 55.	Молоко.	№ 55.	Продол. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	4 кап.	1½ мин.	сверт.	40°
2	"	"	1½ "	"	"
3	"	"	2 "	"	"
4	"	"	3½ "	"	"
5	"	"	7 "	"	"
6	"	"	2 "	"	"
7	"	"	5 "	"	"
8	"	"	14½ "	"	"
9	"	"	1 час.	0	"
	"	"	1 "	0	"

Итакъ, какъ показываютъ опыты съ антипептонами, составляющими смѣсь продуктовъ триптического перевариванія, не реагируютъ на коагулирующее дѣйствіе сычужнаго фермента. Такимъ образомъ эти мои опытные данныя касательно антипептона вполне подтверждаютъ соответствующія данныя Д. Лаврова и В. Завьялова. Антипептоны, касательно ихъ отрицательнаго отношенія къ коагулирующему дѣйствію сычужнаго фермента, совершенно походятъ на амфопептоны.

Опыты съ продуктами пептического перевариванія гетеро- и протальбумозы.

Опыты съ продуктами перевариванія гетероальбумозы.

Опытъ № 57.

2 $\frac{1}{2}$ % растворъ гетероальбумозы, подвергнутый 3-суточному перевариванію съ пепсиномъ Gröbler'a, послѣ нейтрализаціи, былъ сгущенъ на водяной банѣ до 10% содержания сухаго вещества. Опытъ съ растворомъ продѣланъ по нижеслѣдующей схемѣ. Этотъ препаратъ до перевариванія содержалъ незначительное количество вещества, переходящаго въ эфирно-алкоголь, но послѣднее не реагировало съ сычужнымъ ферментомъ.

	Альбу- моз.	HCl.	Сода.	Сыч. ф.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t ⁰
1	8 куб. с.	0	0	12 кап.	0	24 час.	0	39 ⁰
2	"	>0	0	"	0	"	0	"
3	"	0,1 ⁰ / ₀	0	"	0	"	0	"
4	"	0	>0	"	0	"	0	"
5	"	0	0,1 ⁰ / ₀	"	0	"	0	"
6	"	0	0	0	12 кап.	"	0	"
7	молоко 8 к. с.	0	0	12 кап.	0	мгновенн. свертыван.		"

Итакъ, испытуемый растворъ продуктовъ короткаго перевариванія гетероальбумозы совершенно не реагировалъ на свертывающее дѣйствіе сычужнаго

фермента. Контрольный опытъ на цѣлость фермента при опытѣ № 57 показалъ полную его активность.

Полученная изъ этого продукта перевариванія эфирно-алкогольная вытяжка, при испытаніи съ сычужнымъ ферментомъ, дала небольшой осадокъ коагулезы, осадка было получено столь мало, что онъ не былъ подвергнутъ дальнѣйшему изслѣдованію.

Продукты перевариванія этой гетероальбумозы, не перешедшіе въ эфирно-алкогольный растворъ, не реагировали съ сычужнымъ ферментомъ.

Опытъ № 58.

Гетероальбумоза была подвергнута 6-суточному перевариванію съ пепсиномъ Gröbler, при контролѣ на переваривающую способность, по Метту (перевариваніе шло энергично). Послѣ нейтрализаціи переваренная жидкость была выпарена до 10% содержания сухого остатка и испытана съ сычужнымъ ферментомъ. Опытъ былъ произведенъ съ послѣдующимъ контрольнымъ опытомъ, аналогично предидущимъ.

	Альбу- моз.	HCl.	Сода.	Сыч. ф.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t ⁰
1	8 куб. с.	0	0	12 кап.	0	24 час.	0	39 ⁰
2	"	>0	0	"	0	"	очень маль. осадокъ	"
3	"	0,1 ⁰ / ₀	0	"	0	"	0	"
4	"	0	>0	"	0	"	0	"
5	"	0	0,1 ⁰ / ₀	"	0	"	0	"
6	"	0	0	0	12 кап.	"	0	"
7	молоко 8 к. с.	0	0	12 кап.	0	мгновенное свертыван.		"

Итакъ, какъ показаль опытъ, въ пробѣ съ слѣдами свободной HCl получился очень не большой осадокъ. Осадокъ, промытый съ водой, показаль реакціи, свойственныя коагулѣзѣ фракціи VI (пептона Witte), т. е. растворялся легко въ щелочахъ и т. д., реакціи Молиша не далъ. По малому его количеству не всѣ реакціи были произведены съ нимъ. Изъ этого раствора переваренной гетероальбумозы, была получена эфирно-алкогольная вытяжка. Остатокъ эфирно-алкогольной вытяжки послѣ удаленія алкоголя и эфира, былъ растворенъ и поставленъ съ сычужнымъ ферментомъ; полученная коагулѣза равнялась 12,3 % исходнаго матеріала, считая органической остатокъ.

Эта коагулѣза дала тѣ же реакціи, что и коагулѣза фракціи VI (пептона Witte).

Итакъ, 6-ти суточное перевариваніе гетероальбумозы показываетъ, что изъ нея возникаютъ вещества, реагирующія съ сычужнымъ ферментомъ.

Опытъ № 59.

Растворъ гетероальбумозы былъ подвергнутъ 9 суточному перевариванію; нейтрализованный растворъ былъ сгущенъ до 15,4 % содержанія сухого остатка и фракціонированъ спиртомъ и эфиромъ. Первая фракція получена доведеніемъ раствора до 75 % содержанія алкоголя, вторая — при прибавленіи къ фильтрату 1-ой фракціи эфира, (на 10 част. спирта, 6 част. эфира), третья фракція получена выпариваніемъ фильтра второй фракціи.

Фракція I.

Взято по 8 куб. с. 10,4 % воднаго раствора этой фракціи.

	Альбум.	HCl.	Сода.	Сыч. ф.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	8 к. с.	0	0	12 кап.	0	24 час.	0	40°
2	"	> 0	0	"	0	"	0	"
3	"	0,1%	0	"	0	"	0	"
4	"	0	> 0	"	0	"	0	"
5	"	0	0,1%	"	0	"	0	"
6	"	0	0	0	12 кап.	"	0	"
7	молоко 8 к. с.	0	0	12 кап.	0	мгновенное свертыван.		"

Фракція II.

Взято по 8 куб. с. 10,2 % воднаго раствора этой фракціи.

	Фр. II.	HCl.	Сода.	Сыч. ф.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	8 к. с.	0	0	12 кап.	0	24 час.	0	40°
2	"	> 0	0	"	0	"	0	"
3	"	0	> 0	"	0	"	0	"
4	"	0	0	0	12 кап.	"	0	"
5	молоко 8 к. с.	0	0	12 кап.	0	мгновенное свертыван.		"

Фракція III.

Взято раствора фракции III по 5 куб. с. на каждую пробу. Растворъ содержалъ 14,3 % сухого остатка.

	Фр. III.	HCl.	Сода.	Сыч. ф.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	5 к. с.	0	0	7 кап.	0	24 час.	знач. осадок.	40°
2	"	>0	0	"	0	"	"	"
3	"	0	>0	"	0	"	0	"
4	"	0	0	0	7 кап.	"	0	"
5	молоко 5 к. с.	0	0	7 кап.	0		мгновенное свертыван.	"

Итакъ, продѣланный опытъ показываетъ, что гетероальбумоза при перевариваніи отщепляетъ вещество (resp. вещества), реагирующее на коагулирующее дѣйствіе сычужнаго фермента и переходящее при фракціонированіи въ эфирно-алкогольную вытяжку.

Опытъ № 60.

Опытъ съ 14 дневно переваренной гетероальбумозой.

Сгущенный растворъ переваренной альбумозы былъ фракціонированъ такъ-же, какъ при послѣднемъ опытѣ. Растворы всѣхъ фракцій поставлены съ сычужнымъ ферментомъ.

Фракція I.

Взято по 8 к. с. 13,3 % раствора этой фракции.

	Фр. I.	HCl.	Сода.	Сыч. ф.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	8 к. с.	0	0	12 кап.	0	24 час.	0	40°
2	"	>0	0	"	0	"	0	"
3	"	0,1%	0	"	0	"	0	"
4	"	0	>0	"	0	"	0	"
5	"	0	0,1%	"	0	"	0	"
6	"	0	0	0	12 кап.	"	0	"
7	молоко	0	0	12 кап.	0		мгновенное свертыван.	"
8	8 к. с.							

Фракція II.

Взято по 8 куб. с. 10,2 % воднаго раствора этой фракции.

	Фр. II.	HCl.	Сода.	Сыч. ф.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	8 к. с.	0	0	12 кап.	0	24 час.	0	40°
2	"	>0	0	"	0	"	0	"
3	"	0	>0	"	0	"	0	"
4	"	0	0	0	12 кап.	"	0	"
5	молоко 8 к. с.	0	0	12 кап.	0		мгновенное свертыван.	"

Фракція III.

Взято по 5 к. с. 14,5% раствора этой фракции.

	Фр. III.	HCl.	Сода.	Сыч. ф.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	5 к. с.	0	0	7 кап.	0	24 ч.	обиль.	40°
2	"	>0	0	"	0	"	осадокъ	"
3	"	0	>0	"	0	"	0	"
4	"	0	0	0	7 кап.	"	0	"
5	молоко 5 к. к.	0	0	7 кап.	0	мгновенное свертыван.		"

Итакъ, вышеприведенные опыты съ переваренной гетероальбумозой показываютъ, что эта альбумоза перетерпеваетъ подъ вліяніемъ пепсина и HCl гидратацию, съ образованіемъ продуктовъ перевариванія дейтероальбумозного характера, реагирующихъ на свертывающее дѣйствіе сычужнаго фермента.

Опыты съ продуктами пептического перевариванія протальбумозы.

Вышеописанная протальбумозная фракція пептона Witte не реагировала, какъ выше указано съ сычужнымъ ферментомъ; тѣмъ не менѣе содержала въ маломъ количествѣ коагулѣзогенное вещество. Опыты были произведены, какъ съ очищенной, такъ и съ неочищенной отъ коагулѣзнаго вещества протальбумозой. Извлеченіе коагулѣзнаго вещества изъ этой

альбумозы производилось съ помощью водно-эфиро-алкогольного раствора.

Опытъ № 61.

Протальбумоза, неочищенная отъ коагулѣзоченаго вещества (— незначит. количества) поставлена на 3-суточное перевариваніе съ пепсиномъ Grübler + 0,5% HCl. Послѣ нейтрализаціи до слабокислой реакціи, переваренный растворъ выпаренъ на водяной банѣ до 11,87%-наго содержанія сухого остатка. Растворъ былъ испытанъ съ сычужнымъ ферментомъ по нижеслѣдующей схемѣ.

	Перев. альбум.	HCl.	Сода.	Сыч. ферм.	Сыч. ф. убит.	Продол. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0	0	15 кап.	0	24 час.	0	40°
2	"	>0	0	"	0	"	0	"
3	"	0,1%	0	"	0	"	0	"
4	"	0	>0	"	0	"	0	"
5	"	0	0,1%	"	0	"	0	"
6	"	0	0	"	15 кап.	"	0	"
7	молоко 10 к. с.	0	0	15 кап.	0	мгновенное свертываніе		"

Опытъ № 62.

Контрольный опытъ на цѣлость фермента въ пробахъ послѣдняго опыта.

Было взято по 4 капли изъ каждой пробы опыта № 61.

Пробы оп. 61	Молоко.	№ 61.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 куб.с.	4 кап.	1 мин.	сверт.	40°
2	"	"	50 сек.	"	"
3	"	"	1 мин. 2 сек.	"	"
4	"	"	1 1/2 мин.	"	"
5	"	"	3 1/2 "	"	"
6	"	"	1 час.	"	0
7	"	0	0	"	0

Опыт № 61 показывает, что данная протальбумозная фракция, подвергнутая 3-суточному пептическому перевариванию не реагировала на свертывающее действие сычужного фермента. Может быть, при этом 3-х суточном переваривании из данной альбумозной фракции возникло коагуляционное вещество (resp. вещества), но переваренный раствор только потому не реагировал на свертывающее действие сычужного фермента, что содержал вещества, задерживающие рассматриваемое действие этого фермента.

Опыт № 63.

Протальбумозная фракция пептона Witte очищенная от коагуляционного вещества поставлена на 9-ти суточное переваривание с пепсином Grüber. С переваренным и сгущенным до 14,2% содержания сух. остатка раствором, был проведен следующий опыт.

	Перев. пр. альб.	HCl.	Сода.	Сыч. ф.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	8 к. с.	0	0	12 кап.	0	24 час.	Не больш. шой осадок	40°
2	"	>0	0	"	0	"	"	"
3	"	0,1 %	0	"	0	"	"	"
4	"	0	>0	"	0	"	0	"
5	"	0	0,1 %	"	0	"	0	"
6	"	0	0	0	12 кап.	"	0	"
7	молоко 8 к. с.	0	0	12 кап.	0	мгновенное свертывание	"	"

Итак, этот опыт показывает, что протальбумозная фракция пептона Witte, очищенная от коагуляционного вещества (resp. веществ), дает это вещество (resp. вещества), будучи подвергнута пептическому перевариванию.

Опыт № 64.

Протальбумозная фракция, очищенная от коагуляционного вещества, была подвергнута 8-ми суточному пептическому перевариванию с пепсином Grüber. Из нейтрлизованного сгущенного раствора были получены 2 фракции: 1-ая получалась доведением альбумозного раствора спиртом до 75% содержания; 2-ая фракция содержала вещества, перешедшие в раствор, при прибавлении к фильтрату от первой фракции эфира (10 част. спирт. 75%, 6 част. эфира). Осадок выпавший при прибавлении эфира не был исследован, так как его мало получено.

1-ая фракція.

Водный растворъ этой фракціи, содержащій 12,3% сухого вещества, подвергнутъ нижеслѣдующему испытанію съ сычужнымъ ферментомъ.

	Фр. I.	HCl.	Сода.	Сыч. ф.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0	0	15 кап.	0	24 час.	0	40 ₀
2	"	>0	0	"	0	"	0	"
3	"	0,1 ⁰ / ₀	0	"	0	"	0	"
4	"	0	>0	"	0	"	0	"
5	"	0	0,1 ⁰ / ₀	"	0	"	0	"
6	"	0	0	0	15 кап.	"	0	"
7	молоко 10 к. с.	0	0	15 кап.	0	мгновенное свертыван.		"

2-ая фракція.

Водный растворъ этой фракціи содержащій 11,4% сухого вещества, былъ испытанъ съ сычужнымъ ферментомъ по нижеслѣдующей схемѣ.

	Фр. II.	HCl.	Сода.	Сыч. ф.	Сыч. ф. убитъ.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	5 к. с.	0	0	7 кап.	0	24 час.	большой осадокъ.	40 ⁰
2	"	>0	0	"	0	"		"
3	"	0,1 ⁰ / ₀	0	"	0	"		"
4	"	0	>0	"	0	"	0	"
5	"	0	0	0	7 кап.	"	0	"
6	молоко 5 к. с.	0	0	7 кап.	0	мгновенное свертыван.		"

Итакъ, и опытъ № 64 показываетъ, что протальбумозная фракція пептона Witte даетъ при пептическомъ перевариваніи ея, коагулѣзогенное, вещество (resp. вещества). Далѣе этотъ опытъ указываетъ и на то, что коагулѣзогенное вещество (resp. вещества), возникающее изъ указанной альбумозы, по своей растворимости въ водно-спиртово-эфирной смѣси, подходит на вышеописанную фракцію VI пептона Witte. Фракція 2-ая даннаго опыта можетъ быть отождествляема съ указанною фракціею пептона Witte.

Здѣсь я укажу на то, что коагулѣзогенное вещество (resp. вещества), полученное мною при пептическомъ перевариваніи протальбумозной фракціи пептона Witte, было подвергнуто 2-хъ—3-хъ недѣльнымъ пептическимъ перевариваніямъ. Оказалось, что переваренные растворы все еще реагировали на свертывающее дѣйствіе сычужнаго фермента. Такимъ образомъ надо думать, что коагулѣзогенное вещество сравнительно медленно разрушается при пептическомъ перевариваніи.

Опытъ № 65.

Послѣ того какъ вышеприведенные опыты съ сычужнымъ ферментомъ были мною уже произведены, я получилъ препаратъ пепсина Grüber, изслѣдованіе котораго мнѣ показало, что онъ болѣе интензивно дѣйствуетъ на коагулѣзогенное вещество альбумозъ, чѣмъ тотъ препаратъ сычужнаго фермента которымъ я располагалъ (препаратъ, который обнаружилъ энергичное свертывающее дѣйствіе). Слѣдующія пробы опыта № 65 могутъ иллюстрировать только что сказанное.

Для опыта былъ взятъ 14,3% водный растворъ коагулѣзогеннаго вещества, полученнаго водно-спиртрово-эфирною смѣсью изъ перѣваренной протальбумозной фракціи пептона Witte. Датскій сычужный ферментъ брался по 10 капель на 10 куб. с. раствора альбумозы; пепсинъ Grübler'a брался въ 10% растворъ по 5 капель на 10 куб. с. альбумозы.

Проба.	Препаратъ сычужн. фермента.	10% растворъ пепсина Grübler.
1-я	14,7% убыли по азоту.	19,3% убыли по азоту.
2-я	14,9% " " "	20,01% " " "
3-я	15,1% " " "	19,8% " " "

Опытъ № 66.

Пепсинъ Grüblera, какъ болѣе сильный коагулирующій агентъ, былъ поставленъ съ растворомъ продуктовъ вышеописаннаго 3-хъ дневнаго пептического перевариванія протальбумозы, содержащимъ 11,87% сухого вещества — растворъ, который не реагировалъ съ датскимъ препаратомъ сычужнаго фермента. Опытъ произведенъ по нижеслѣдующей схемѣ.

Итакъ, и опытъ № 66 показываетъ, что мой препаратъ пепсина Grübler энергичнѣе дѣйствовалъ свертывающимъ образомъ на коагулѣзогенное вещество, чѣмъ имѣющийся у меня датскій препаратъ сычужнаго фермента.

	Перев. пр. альб.	HCl.	Сода.	Пепсин. 10% р.	Пепсин. убит.	Продол. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0	0	15 кап.	0	24 час.	нейболь- шой оса- докъ	40°
2	"	>0	0	"	0	"	"	"
3	"	0,1%	0	"	0	"	"	"
4	"	0	>0	"	0	"	0	"
5	"	0	0,1%	"	0	"	0	"
6	"	0	0	0	15 кап.	"	0	"
7	молоко 10 к. с.	0	0	15 кап.	0	мгновенное свертыван.	"	"

Опытъ № 67.

Опытъ произведенъ съ растворами фракціи VI пептона Witte, очень чувствительной къ коагулирующему дѣйствию сычужнаго фермента. Растворъ содержалъ 9,9% сухого вещества и очень мало золы. Пробы произведены въ градуированныхъ цилиндрикахъ. Пробы при щелочной реакціи не были сдѣланы въ виду того, что эта реакція, какъ предидущіе опыты показали, является не подходящею для свертывающаго дѣйствія сычужнаго фермента.

Продѣланнй растворъ показываетъ, что сычужный ферментъ, въ присутствіи слѣдовъ свободной HCl, наилучше дѣйствуетъ на коагулѣзогенное вещество. При количествѣ 0,5% — 0,6% свободной HCl, означенное дѣйствіе сычужнаго фермента уже не наблюдается.

	Фр. VI.	HCl.	Сыч. ферм.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Колич. осадка.	t°
1	10 к. с.	0	15 кап.	0	24 час.	1,75 к. с.	40°
2	"	>0	"	0	"	2,75 " "	"
3	"	0,1%	"	0	"	2 " "	"
4	"	0,2%	"	0	"	0,75 " "	"
5	"	0,3%	"	0	"	0,75 " "	"
6	"	0,4%	"	0	"	слѣды	"
7	"	0,5%	"	0	"	0	"
8	"	0,6%	"	0	"	0	"
9	"	0	0	15 кап.	"	0	"
10	молоко 10 к. с.	0	15 кап.	0	мгновенное свертываніе		"

Опытъ № 68.

Троекратно очищенный растворъ фракціи VI пептона Witte подвергнуть повторному, послѣдовательному дѣйствію пепсина Grüber (10% водный растворъ фермента). Растворъ альбумозы 9,9%.

Къ раствору альбумозы прибавленъ растворъ пепсина Grüber; смѣсь поставлена на 24 часа въ термостатъ, — съ осѣвшею коагулѣзою выдѣлилось 14,8% общаго количества азота (— считая на общій азотъ коагулѣзогенныхъ веществъ данной фракціи). При такомъ же повторномъ дѣйствіи выдѣлилось 4,6% азота.

Подобнымъ образомъ былъ полученъ 3-тій разъ коагулѣзный осадокъ, съ этимъ осадкомъ выдѣлилось 1,2% азота, а съ 4-ый разъ полученнымъ коагулѣз-

нымъ осадкомъ 0,5% азота. Фильтраты, послѣ первыхъ двухъ дѣйствій пепсина, не свертывали молока. Съ фильтрами 3-имъ и 4-ымъ получались довольно энергичныя свертыванія молока. Фильтратъ, обработанный послѣ дѣйствія пепсина эфиромъ-алкоголемъ, давалъ вытяжку, реагирующую съ сычужнымъ ферментомъ. Изъ этого видно, что часть коагулѣзогенаго вещества (resp. веществъ) остается внѣ реакціи, не смотря даже на повторныя прибавленія фермента. Очевидно при дѣйствіи сычужнаго фермента на водные растворы коагулѣзогенныхъ веществъ, условія среды въ этихъ растворахъ дѣлаются не благоприятными для дальнѣйшаго дѣйствія этого фермента.

Опытъ № 69.

Опытъ предпринятъ для выясненія того, при какомъ разведеніи водныхъ растворовъ, коагулѣзогенныя вещества, способны еще реагировать на свертывающее дѣйствіе сычужнаго фермента.

Опытъ произведенъ въ градуированныхъ цилиндрикахъ. Для опыта была взята вышеописанная фракція VI.

	Фр. VI.	%	HCl.	Сыч. Ферм.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0,25%	>0	15 кап.	24 час.	0	40°
2	"	0,5%	>0	"	"	слѣды	"
3	"	1%	>0	"	"	слѣды	"
4	"	2,5%	>0	"	"	0,1 к. с.	"
5	"	5%	>0	"	"	0,5 к. с.	"
6	"	5%	>0	0	"	0	"
7	молоко 10 к. с.	0	0	15 кап.	мгновенное свертыван.		"

Итакъ, коагулёзогенныя вещества, будучи взяты въ водныхъ растворахъ, реагируютъ на свертывающее дѣйствіе сычужнаго фермента только тогда, когда ихъ растворы являются не чрезчуръ слабыми: 0,25 растворъ не даетъ ни слѣда реакціи.

Опытъ № 70.

Этотъ опытъ предпринять для полученія разныхъ осадочныхъ фракцій, разсматриваемой фракціи VI, а именно съ помощью повареной соли и для испытанія этихъ фракцій по отношенію къ сычужному ферменту.

1-ая фракція, — осадокъ былъ полученъ при насыщеніи воднаго раствора фракціи VI хлористымъ натріемъ при комнатной температурѣ.

2-ая фракція, — осадокъ, выпавшій при подкисленіи фильтрата, полученнаго отъ 1-го осадка.

3-я фракція — фильтратъ, полученный отъ 2-го осадка.

Самая большая изъ всѣхъ фракціи была фракція 3-я.

При опытахъ водные растворы всѣхъ фракцій брались одинаковой крѣпости. Растворы, реагирующіе слабо съ конго-бумажкою, были испытаны съ сычужнымъ ферментомъ.

1-ая фракція потеряла при обработкѣ сычужнымъ ферментомъ 19,5% сухого вещества, — съ выпавшей коагулёзой.

Вторая — са. 22%

Третья — са. 21%

Опытъ показываетъ, что фракціонированіемъ хлористымъ натріемъ нельзя, повидимому, раздѣлить фрак-

цію VI на вещества коагулёзогенныя и некоагулёзогенныя: всё только что указанная фракція приблизительно одинаково количественно реагируетъ съ сычужнымъ ферментомъ.

Опыты съ продуктами пептического перевариванія альбуминовъ лошадиной кровяной сыворотки.

Опытъ № 71.

Вышеупомянутые альбумины лошадиной кровяной сыворотки были подвергнуты 6-суточному пептическому перевариванію (съ пепсиномъ Grüber'a). Нейтрализованный, сгушенный фильтратъ, содержащій приблизительно 20% сухого остатка, былъ осажденъ спиртомъ и эфиромъ, (подобно тому какъ это было сдѣлано съ пептономъ Witte). Осадокъ, возникшій при этой обработкѣ, составлялъ 1-ую фракцію, а фильтратъ 2-ую фракцію.

14,8% водный растворъ 1-ой фракціи оказался нереагирующимъ съ сычужнымъ ферментомъ на коагулёзогенное вещество, какъ это указываетъ нижеприведенная таблица опыта.

	Фр. I.	HCl.	Сода.	Сыч. ф.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0	0	15 кап.	0	24 час.	0	40°
2	"	>0	0	"	0	"	0	"
3	"	0,1%	0	"	0	"	0	"
4	"	0	>0	"	0	"	0	"
5	"	0	0,1%	"	0	"	0	"
6	"	0	0	0	15 кап.	"	0	"
7	молоко 10 к. с.	0	0	15 кап.	0	мгновенное свертыван.	"	"

Опытъ № 72.

Предварительный опытъ съ воднымъ растворомъ 2-ой фракціи, для выясненія наилучшихъ условий реакціи веществъ этой фракціи, на свертывающее дѣйствіе сычужнаго фермента. Растворъ содержалъ 12,8 % сухого вещества.

	Фр. II.	HCl.	Сода.	Сыч. ф.	Сыч. ф. убит.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	5 к. с.	0	0	7 кап.	0	23 час.	обильн. осадокъ	40°
2	"	> 0	0	"	0	"	"	"
3	"	0,1 %	0	"	0	"	"	"
4	"	0	> 0	"	0	"	0	"
5	"	0	0,1 %	"	0	"	0	"
6	"	0	0	0	7 кап.	"	0	"
7	молоко 5 куб. с.	0	0	7 кап.	0		мгновенное свертываніе	"

Итакъ, произведенный опытъ показываетъ, что при пептическомъ перевариваніи вышеописанныхъ альбуминовъ лошадиной кровяной сыворотки возникаетъ коагулезогенное вещество (resp. вещества), которое эфиръ-алкоголемъ удаляется изъ означенной смѣси продуктовъ перевариванія.

Опытъ № 73.

100 куб. с. раствора 2-ой фракціи продуктовъ перевариванія альбуминовъ, содержащаго 12,8 % су-

хого вещества и 1,97 % азота (по Kjeldahl'y), послѣ доведенія его до слабой реакціи съ конго бумажкою и прибавленія 1 куб. с. 10% раствора пепсина Grubler, поставлены на 20 часовъ въ термостатъ при температурѣ 39°. Послѣ этого образовавшійся осадокъ коагулезы былъ отфильтрованъ, фильтратъ снова поставленъ на такое же время съ такимъ же количествомъ пепсина Grubler въ термостатъ. Операция эта еще 2 раза повторена. На 4 разъ очень мало образовалось осадка. Оказалось, что послѣ 4-кратнаго дѣйствія пепсина, съ коагулезой выдѣлилось 37,18 % азота (по Kjeldahl'y) считая на общее количество азота.

Осадокъ промытый, дистил. водой до исчезновенія біуретовой реакціи, высушивался при 105—180 до постоянного вѣса.

Элементарный анализъ коагулезы, полученной изъ переваренныхъ альбуминовъ.

Опредѣленіе С и Н.

Анализъ I.

Взято 0,210 вещества.

$$\begin{aligned} \text{Найдено } 0,642 \text{ CO}_2 &= 0,1266 \text{ C} \\ &= 60,28 \% \text{ C.} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{O} &= 0,1372 = 0,01524 \text{ H} \\ &= 7,025 \% \text{ H.} \end{aligned}$$

Анализъ II.

Взято 0,201 вещества.

$$\begin{aligned} \text{Найдено } 0,4512 \text{ CO}_2 &= 0,12078 \text{ C} \\ &= 60,089 \% \text{ C.} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{O} &= 0,1301 = 0,01445 \text{ H} \\ &= 7,189 \% \text{ H.} \end{aligned}$$

Анализъ III.

Взято 0,202 вещества.

$$\begin{aligned} \text{Найдено } 0,4446 \text{ CO}_2 &= 0,12125 \text{ C} \\ &= 60,024 \% \text{ C.} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{H}_2\text{O} &= 0,1319 = 0,01465 \text{ H} \\ &= 7,205 \% \text{ H.} \end{aligned}$$

Среднее изъ трехъ опредѣленій

$$\text{C} = 60,131 \%$$

$$\text{H} = 7,139 \%$$

$$\text{N} = 13,66 \%$$

Итакъ, при пептическомъ перевариваніи альбуминовъ получается коагулёзогенное вещество (resp. вещества), реагирующее на свертывающее дѣйствіе сычужнаго фермента, съ образованіемъ коагулёзы (resp. коагулёзы). Коагулёза эта походитъ въ общихъ чертахъ на коагулёзы, полученныя мною изъ пептона Witte, но по содержанію C и H она отличается отъ описанныхъ мною коагулёзъ фракціи II и фракціи VI пептона Witte.

Опыты съ продуктами пептического перевариванія глобулиновъ лошадиной кровяной сыворотки.

Вышеописанные глобулины лошадиной кровяной сыворотки были подвергнуты 5-дневному пептическому перевариванію. Изъ продуктовъ перевариванія было получено 2 фракціи такимъ же образомъ, какъ это было сдѣлано относительно альбуминовъ.

Опытъ № 74.

Для этого опыта взять 13,9 % водной растворъ первой фракціи, съ которымъ продѣланъ опытъ по нижеслѣдующей схемѣ.

	Фр. I.	HCl.	Сода.	Сыч. ф.	Сыч. ф. убит.	Продол. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0	0	15 кап.	0	24 час.	0	40°
2	"	>0	0	"	0	"	0	"
3	"	0,1%	0	"	0	"	0	"
4	"	0,2%	0	"	0	"	0	"
5	"	0	>0	"	0	"	0	"
6	"	0	0,1%	"	0	"	0	"
7	"	0	0	0	15 кап.	"	0	"
8	молоко к. с.	0	0	15 кап.	0	мгновенное свертваніе	"	"

Итакъ, опытъ № 74 показываетъ, что растворъ разсматриваемой фракціи продуктовъ перевариванія глобулиновъ не реагируетъ съ сычужнымъ ферментомъ.

Опытъ № 75.

2-ая фракція продуктовъ перевариванія глобулиновъ (водно-спиртово-эфирная вытяжка), взятая въ водномъ растворѣ, содержащимъ 12,75 % сухого остатка и 1,96 % азота (по Kj e d a h l'y), реагировавшимъ очень слабо съ конго бумажкою, была подвергнута послѣдовательному 3 кратному дѣйствию пепсина Gr ü b l e r'a. Оказалось, что эта фракція довольно рѣзко реагируетъ на свертывающее дѣйствіе пепсина Gr ü b l e r. Съ коагулёзами выдѣлилось 36,38 % азота, считая на общій азотъ взятаго раствора.

Полученная коагулёза, высушенная до постояннаго вѣса при 105—108°, содержала 13,75 % азота (по Kj e d a h l'y).

Опытъ № 76.

Выше мною было указано, что фракціи II, III, IV, V пептона Witte не были подвергнуты очисткѣ. Эти фракціи, какъ видно изъ опытовъ, довольно слабо реагировали съ сычужнымъ ферментомъ. Эти фракціи были подвергнуты обработкѣ эфирно-спиртовой смѣсью, для удаленія изъ нихъ коагулезогеннаго вещества (resp. веществъ). Очистка производилась вышеописаннымъ образомъ. Опыты были продѣланы съ очищенными водными растворами са. 10,5 % содержания. Ферментами служили датскій препаратъ сычужнаго фермента и 10 % растворъ пепсина Gr ü b l e r.

Фракція II.

	Фр. II.	Сыч. ф.	Пепсин. 10% р.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	10 кап.	0	24 час.	0	40°
2	"	0	5 кап.	"	0	"

Фракція III.

	Фр. III.	Сыч. ф.	Пепсин. 10% р.	Продол. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	10 кап.	0	24 час.	0	40°
2	"	"	5 кап.	"	"	"

Фракція IV.

	Фр. IV.	Сыч. ф.	Пепсин. 10% р.	Продол. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	10 кап.	0	24 час.	0	40°
2	"	0	5 кап.	"	0	"

Фракція V.

	Фр. V.	Сыч. ф.	Пепсин. 10% р.	Продол. опыта.	Реакц.	40°
1	10 к. с.	10 кап.	0	24 час.	0	40°
2	"	0	5 кап.	"	опалесц.	"

Итакъ, какъ показываютъ эти пробы, упомянутыя фракціи пептона Witte реагировали съ сычужнымъ ферментомъ только, по столько, по скольку онѣ содержали какъ примѣсь, коагулозогенныя вещества. Такимъ образомъ надо считать, что изъ всѣхъ фракцій пептона Witte только фракція VI является фракціею, содержащею коагулѣзогенное вещество (resp. вещества).

Опытъ № 77.

Ниже приводимые опыты указываютъ на то, что фракціи II, III, V пептона Witte, какъ и продукты пептического перевариванія альбуминовъ и глобулиновъ, реагировали на свертывающее дѣйствіе сычужнаго фермента далеко не всѣмъ тѣмъ количествомъ коагулѣзогеннаго вещества (resp. веществъ), какое въ той или другой фракціи содержалось (какъ примѣсь). Фракціи II, III, V, обработанныя до исчезновенія коагулѣзогенной реакціи съ сычужнымъ ферментомъ, были сгущены и осаждены смѣсью алкоголя и эфира (какъ при полученіи фракціи VI). Фильтраты всѣхъ фракцій, по удаленіи эфира и спирта, растворены въ перегнанной водѣ. Для испытанія брались растворы 24,36 %—26,4 % крѣпости, которые были подвергнуты дѣйствію сычужнаго фермента и пепсина Grübler'a. Оказалось, какъ изъ нижеприведенной таблички видно, что такимъ образомъ полученныя вытяжки довольно рѣзко реагировали съ ферментомъ.

Вытяжк.	Проба съ сыч. ферм.	Проба съ пепс. Grübler.
Фракція II.	18,35 %	25,1 %
„ III.	22,4 %	26,9 %
„ V.	14,04 %	22,79 %

Табличка показываетъ, сколько вещества изъ той или другой пробы выдѣлилось подъ вліяніемъ фермента.

Опытъ № 78.

Растворъ фракціи VI, послѣ повторнаго обработыванія сычужнымъ ферментомъ, былъ сгущенъ и изъ него была снова получена водно-спиртово-эфирная вытяжка, которая была испытана на присутствіе коагулѣзогеннаго вещества (resp. веществъ). Оказалось, что съ сычужнымъ ферментомъ, водный растворъ веществъ этой вытяжки далъ 12,9 % коагулезы, а пепсинъ 13,4 %, считая по убыли органическихъ веществъ изъ изслѣдуемаго раствора.

Итакъ, на основаніи этого опыта надо полагать, что водные растворы коагулѣзогенныхъ веществъ, реагирующихъ даже повторно на свертывающее дѣйствіе сычужнаго фермента или пепсина, въ концѣ концовъ теряютъ способность дальнѣйшаго реагированія на ферментъ, при содержаніи коагулѣзогеннаго вещества въ растворѣ.

По видимому въ такихъ растворахъ, подвергающихся свертывающему дѣйствію сычужнаго фермента

(resp. пепсина), возникают такія условія, которыя задерживают означенное дѣйствіе этого фермента: можетъ быть подъ вліяніемъ того дѣйствія сычужнаго фермента, которое я называлъ свертывающимъ, возникаютъ не только коагулёзы, которыя мы получаемъ въ осадкѣ, но и какіе либо другіе продукты ферментативной дѣятельности этого агента, остающіеся въ растворѣ и задерживающіе коагулезообразовательную дѣятельность разсматриваемаго фермента.

Опыты съ вытяжками по Вауегу, полученными изъ продуктовъ перевариванія бѣлковыхъ вѣществъ.

Вышеописанные амфопептоны, полученные при короткомъ и продолжительномъ пептическомъ перевариваніи яичной бѣлковины, были обработаны по Вауегу, а именно высушены на водяной банѣ и многократно извлечены горячимъ 95 % алкогелемъ; горячія вытяжки были охлаждены до комнатной t^0 и профильтрованы. Изъ фильтратовъ былъ удаленъ спиртъ и съ водными растворами были продѣланы нижеприводимыя реакціи. Для реакціи были взяты 1 % растворы.

95 % алкогольная вытяжка амфопептона короткаго перевариванія.

Реакціи.

- 1) Біуретовая очень слабая, розово-красное окраш.
- 2) Миллона — не получается,
- 3) Молиша — не получается,
- 4) Адамкевича — слабая.
- 5) Ксантопротеиновая — средней степени.

95 % алкогольная вытяжка, полученная изъ амфопептона долгаго перевариванія.

Реакціи.

- 1) р. Біуретовая — не получается.
- 2) р. Миллона — не получается.
- 3) р. Молиша — не получается.
- 4) р. Адамкевича — очень слабая.
- 5) р. Ксантопротеиновая — средней степени.

Итакъ, на основаніи вышеприведенныхъ цвѣтовыхъ реакцій надо заключить, что означенныя вытяжки содержали только продукты глубокаго распада бѣлковой частицы: первая вытяжка давала очень слабую біуретовую реакцію; вторая ея совершенно не давала.

Опытъ № 79.

Вышеописанныя, алкогольныя вытяжки амфопептоновъ подвергнуты дѣйствію и сычужнаго фермента и пепсина Grüber. Водный растворъ веществъ вытяжки короткаго перевариванія (— А) содержалъ 10,4 % сухого остатка и 1,32 % азота (по Kjeldahl'у); водный растворъ веществъ вытяжки долгаго перевариванія (— В) содержалъ 10,6 % сухого остатка и 1,331 % азота (по Kjeldahl'у). Опытъ продѣланъ нижеслѣдующимъ образомъ:

	А.	В.	Сыч. ферм.	Пепсин. 10 ⁰ / ₀ р.	Прод. опыта.	Реакц.	t ⁰
1	10 к. с.	0	10 кап.	0	24 час.	0	40 ⁰
2	"	0	0	5 кап.	"	0	"
3	0	10 к. с.	10 кап.	0	"	>0	"
4	0	"	0	5 кап.	"	>0	"
5	молоко 10 к. с.	0	10 кап.	0			"
6	"	0	0	5 кап.	мгновенное свертывание		"

При прибавлении фермента къ пробамъ А, тотъ-часъ же возникла незначительная муть, давшая при стояннн слѣды осадка.

Пробы В дали при стояннн въ термостатѣ очень незначительные осадки; эти осадки оказались не-растворимыми въ водѣ, трудно въ ѣдкихъ щелочахъ. Щелочные растворы не давали ни слѣдовъ біуретовой реакціи.

Такимъ образомъ этотъ опытъ показываетъ, что эти вытяжки по Вауег'у не реагировали на свертывающее дѣйствіе сычужнаго фермента и пепсина: не возникло осадка съ свойствами осадковъ коагулезъ. Вообще жѣ вытяжка А не дала никакого осадка; вытяжка же В дала какіе то осадки, но въ очень незначительномъ количествѣ.

Итакъ, на основаннн своихъ опытныхъ данныхъ я не могу подтвердить данныхъ Вауег'а и не могу присоединиться къ его мнѣнію, что будто бы сычужный ферментъ оказываетъ какое то синтетическое дѣйствіе на продукты глубокаго распада бѣлковыхъ веществъ.

Опытъ № 80.

Вышеупомянутые амфопептоны яйчной бѣлковины, послѣ приготовления изъ нихъ алкогольной вытяжки по Вауег'у, были растворены въ незначительномъ количествѣ воды и къ этимъ растворамъ былъ прибавленъ абсолютный алкоголь до 95⁰/₀ содержания — были получены водно-спиртовые, 95⁰/₀ вытяжки. Вытяжки были освобождены отъ спирта и сгущены.

1⁰/₀ растворы (водные) дали слѣдующія цвѣт-выя реакціи:

Водноалкогольная вытяжка полученная, изъ амфопептона короткаго перевариванія (— А).

Реакціи.

- 1) р. Біуретовая — очень слабая.
- 2) р. Молиша — не получается.
- 3) р. Миллона — не получается.
- 4) р. Адамкевича — слабая.
- 5) р. Ксантопротеиновая — средней степени.

Водноалкогольная вытяжка, полученная изъ амфопептона долгаго перевариванія (— В).

Реакціи.

- 1) р. Біуретовая — не получается.
- 2) р. Молиша — не получается.

- 3) р. Миллона — не получается.
 4) р. Адамкевича — очень слабая.
 5) р. Ксантопротеиновая — средней степени.

Такимъ образомъ, какъ показываютъ вышеприведенныя реакціи, полученная водно-алкогольная вытяжка содержала только продукты глубокаго распада бѣлковыхъ веществъ.

Съ растворомъ этой вытяжки продѣланъ ниже слѣдующій опытъ.

	А.	В.	Сыч. ф.	Пепсин. 10% р.	Прод. опыта.	Реакц.	t°
1	10 к. с.	0	10 кап.	0	24 час.	0	40°
2	"	0	0	5 кап.	"	0	"
3	0	10 к. с.	10 кап.	0	"	> 0	"
4	0	"	0	5 кап.	"	> 0	"
5	молоко 10 к. с.	0	10 кап.	0	мгновенное свертываніе		"
6	"	0	0	5 кап.	"		"

Пробы А дали, непосредственно по прибавленіи растворовъ ферментовъ, незначительную муть, очевидно, не ферментативнаго происхожденія, перешедшую въ очень незначительный осадокъ, послѣ чего онѣ оставались безъ измѣненія. Пробы В реагировали на прибавленіе ферментовъ также, какъ соответствующія пробы опыта № 79, и осадки, полученные при этихъ пробахъ совершенно не походили на осадки коагулёзъ; къ тому же эти осадки возникли въ очень

незначительномъ количествѣ и, вѣроятно, они обязаны своимъ происхожденіемъ не ферментативному дѣйствию растворовъ означенныхъ ферментовъ.

Такимъ образомъ пробы и съ этими водно-алкогольными вытяжками разсматриваемыхъ амфопептоновъ не реагируютъ на свертывающее дѣйствіе сычужнаго фермента (resp. пепсина).

Выводы.

Вопросъ о тождественности или нетождественности сычужнаго фермента съ пепсиномъ не можетъ быть разсматриваемъ окончательно выясненнымъ. Поэтому я не могъ не указать на то, что, говоря выше въ своей работѣ о свертывающемъ дѣйствіи „сычужнаго“ фермента, я этимъ самымъ не хочу сказать, что здѣсь идетъ рѣчь о дѣйствіи именно сычужнаго фермента, а не о дѣйствіи пепсина, или не о дѣйствіи какого либо другого фермента. Говоря о свертывающемъ дѣйствіи „сычужнаго“ фермента, или о свертывающемъ дѣйствіи „пепсина“, я позволялъ себѣ выражаться, желая просто отънѣть, что въ томъ или другомъ случаѣ, я пользовался продажными препаратами такъ называемаго сычужнаго фермента, въ другихъ случаяхъ продажнымъ, такъ называемымъ пептическимъ ферментомъ.

Свертывающее дѣйствіе сычужнаго фермента (resp. пепсина) обнаруживается только на извѣстной группѣ продуктовъ пептического перевариванія бѣлковыхъ веществъ, — группѣ продуктовъ, носящихъ общій характеръ дейтероальбумозъ.

Заслуживаетъ вниманія, что первичныя альбумозы не реагируютъ на свертывающее дѣйствіе сычужнаго фер-

мента. Относительно этого мои данныя вполне подтверждаютъ данныя Д. Кураева. Дальше заслуживаетъ вниманія то обстоятельство, что продукты перевариванія бѣлковыхъ веществъ, не осаждающіеся $(NH_4)_2SO_4$, также не реагируютъ на разсматриваемое дѣйствіе этого фермента. Мои опытные данныя въ этомъ отношеніи подтверждаютъ соответствующія данныя Д. Лаврова.

Дальше, такіе продукты пептического перевариванія бѣлковыхъ веществъ, какіе растворяются въ 95% спиртѣ и которые получены изъ амфопептоновъ, не реагируютъ съ сычужнымъ ферментомъ (resp. пептономъ). Итакъ, продукты болѣе или менѣе глубокаго распада бѣлковыхъ веществъ, подобно первичнымъ альбумозамъ и нѣкоторымъ дейтероальбумозамъ, не реагируютъ означеннымъ образомъ съ сычужнымъ ферментомъ (resp. пепсиномъ).

Относительно общаго характера разсматриваемой реакціи мнѣ кажется, что здѣсь дѣло идетъ о какомъ то расщепленіи извѣстныхъ продуктовъ перевариванія бѣлковыхъ веществъ, съ образованіемъ своеобразныхъ бѣловыхъ тѣлъ, имѣющихъ нѣкоторое сходство со свернутыми бѣловыми тѣлами. Въ этомъ отношеніи я придерживаюсь мнѣнія Д. Кураева, какъ и М. Лавровой и С. Салазкина, видѣвшихъ въ этой реакціи разложеніе продуктовъ перевариванія бѣлковыхъ веществъ. На извѣстные намъ обычные продукты перевариванія бѣлковыхъ веществъ эти продукты не походятъ, по своей растворимости въ водѣ и въ растворахъ нейтральныхъ солей.

Въ виду того, что они носятъ внѣшній характеръ свер-

нутыхъ бѣлковыхъ веществъ, я присоединялся къ номенклатурѣ Д. Курева, называлъ ихъ коагулезами, а вещество, способное давать коагулезы, я называлъ коагулезогеннымъ. Реакція болѣе или меньше крѣпкихъ водныхъ растворовъ коагулезъ съ сычужнымъ ферментомъ (resp. пепсиномъ) наступаетъ быстро — черезъ нѣсколько минутъ и оканчивается довольно скоро — въ нѣсколько часовъ, что обнаруживается тѣмъ, что испытуемый растворъ начинаетъ просвѣтляться, въ слѣдствіе осѣданія выдѣлившихся коагулезъ.

Является ли коагулезный осадокъ, полученный съ растворомъ продуктовъ перевариванія какого-либо даннаго бѣлковаго вещества, химически индивидуальнымъ, или онъ есть смѣсь различныхъ коагулезъ, — это есть вопросъ, требующій особаго изслѣдованія. Во всякомъ случаѣ коагулезы, получаемыя изъ продуктовъ перевариванія фибрина (пептона Witte), не походятъ на коагулезы, полученные изъ продуктовъ перевариванія альбуминовъ лошадиной кровяной сыворотки и т. д., такъ что во всякомъ случаѣ надо заключить, что существуютъ различныя по своему химическому элементарному составу коагулезы: коагулезы фибрина, коагулезы альбумина и т. д.

Коагулезообразовательная дѣятельность сычужнаго фермента задерживается повидимому тѣми или другими продуктами перевариванія не коагулезогеннаго характера, или они находятся въ одномъ и томъ же растворѣ вмѣстѣ съ коагулезогеннымъ веществомъ.

При своихъ опытахъ я не могъ констатировать воз-

никновенія „растворимаго пластеина“, вмѣстѣ съ возникновеніемъ, подѣ влияніемъ сычужнаго фермента (resp. пепсина), коагулезъ.

Итакъ, рассматриваемое дѣйствіе сычужнаго фермента (resp. пепсина) не носитъ характера какой бы то не было регенераціи.

Касательно біологическаго значенія могущаго быть въ животномъ организмѣ при свертывающемъ дѣйствіи сычужнаго фермента на продукты перевариванія бѣлковыхъ веществъ, трудно теперь, на основаніи имѣющихся опытныхъ данныхъ, сказать что либо определенное.

Фактъ, впервые констатированный А. Данилевскимъ относительно свертывающаго дѣйствія сычужнаго фермента на продукты перевариванія бѣлковыхъ веществъ, открылъ собою рядъ работъ, направленныхъ къ выясненію этого весьма интереснаго въ фізіолого-химическомъ и біологическомъ отношеніяхъ вопроса, — вопроса о дѣятельности сычужнаго фермента (или пепсина) на продукты перевариванія бѣлковыхъ веществъ.

Закончивъ этимъ изложеніе своей работы, я считаю своимъ пріятнымъ долгомъ выразить искреннюю благодарность многоуважаемому проф. Давиду Мелитоновичу Лаврову, за позволеніе работать въ лабораторіи Фармакологическаго Института, за предложенную мнѣ тему и за неутомимое руководство при этой моей работѣ.

Положенія.

1. Реакція съ сычужнымъ ферментомъ подобно другимъ ферментативнымъ реакціямъ не доходитъ до конца.
2. Вещество, реагирующее съ сычужнымъ ферментомъ, не удалось еще получить до сихъ поръ въ чистомъ видѣ.
3. Сычужный ферментъ дѣйствуетъ только на немногія бѣлковыя тѣла.
4. Продукты глубокаго распада бѣлковой частицы не мѣшаютъ реакціи съ сычужнымъ ферментомъ.
5. Соли кальція, барія и стронція, взятыя въ не очень малыхъ количествахъ (0,3%), производятъ свертываніе молока, аналогичное такому свертыванію, какое получается отъ дѣйствія сычужнаго фермента, но при болѣе высокихъ температурахъ.
6. Не желательна открытіе специальныхъ фармацевтическихъ институтовъ, отдѣленныхъ отъ университетовъ.