

Sonderdruck aus

## MITTEILUNGEN

der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft und der Pharmazeutischen  
Gesellschaft der DDR

36. Jahrg. 1966, Heft 2, Seite 29—34

## Wissenswertes für die pharmazeutische Praxis

### Photometrische Gehaltsbestimmung von Handelspepsinen und Pepsinweinen\*)

Von *W. Wiegrebe*

Aus dem Institut für Pharmaz. Technologie der Techn. Hochschule Braunschweig

Es wird eine Variation der *Anson*-Methode zur Gehaltsbestimmung von Pepsinen und Pepsinweinen beschrieben. Damit ist es möglich, den Gehalt galenischer Pepsinzubereitungen mit einer Genauigkeit von  $\pm 5\%$  zu bestimmen.

Das DAB 6 läßt Pepsin und Pepsinwein nach einer Methode untersuchen, die Hühnerei-Eiweiß als Substrat verwendet. Diese Untersuchung legt lediglich einen unteren Grenzwert fest. Abgesehen davon ist diese Arbeitsweise häufig kritisiert worden: *H. Pènar* und *R. Audic*<sup>1)</sup> führen an, daß Hühnerei-Eiweiß als Substrat ungeeignet ist, da es in Abhängigkeit vom Alter unterschiedlich schnell angegriffen wird. *E. G. Young* und *J. G. Macdonald*<sup>2)</sup> teilen mit, daß der Verdauungsgrad von Eiereiweiß unabhängig von der Kochdauer (2 bis 30 Min.) sei; demgegenüber wird von *Hiromu Kasaki* und *Akie Ochi*<sup>3)</sup> beobachtet, daß zwischen Kochdauer und Verdaubarkeit ein Zusammenhang besteht. *A. Stasiak* und *B. Kerényi*<sup>4)</sup> weisen darauf hin, daß die Eiereiweiß-Methode nur zuverlässig sei, wenn ein Pepsinstandard mitverglichen wird. Diese Autoren bestimmen wie die Brit. 1963 das Volumen des unverdauten Substrates, *H. L. Greenberg*<sup>5)</sup> stellt fest, daß die Eiereiweiß-Methode schwankende Werte liefert, die vom Wassergehalt des Eiweißes, dem Alter der Eier, dem Zerkleinerungsgrad und der Schüttelintensität abhängig sind (das DAB 6 schließt die beiden letztgenannten Unsicherheitsfaktoren aus). *G. Bümming*<sup>6)</sup> weist ebenfalls darauf

\*) Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. phil. *W. Awe*, zum 65. Geburtstag in Dankbarkeit für seine ständige Förderung gewidmet.

1) *C. 1934* II, 1343.

2) *C. 1928* II, 71.

3) *C. A. 63*, 22580 e (1959).

4) *C. 1934* I, 1086; *C. 1933* II, 2713.

5) *C. 1932* I, 3328.

6) *Dtsch. Apotheker-Ztg. 44*, 964 (1929).

hin, daß das Eiweißalter auf das Resultat Einfluß hat. — Auch der Wert der Casein-Methode, die z. B. in das ÖAB 9 aufgenommen wurde, wird gelegentlich in Frage gestellt (z. B. *Ph. Horkheimer*<sup>7)</sup>), während andere Autoren sich für diese Bestimmung einsetzen (z. B. *M. Bachstez*<sup>8)</sup>, *H. Eschenbrenner*<sup>9)</sup> und *W. Brandrup*<sup>10)</sup>).

In der Literatur sind außerdem folgende Pepsinbestimmungen beschrieben, die als Auswahl aufgeführt werden sollen: *Kunitaro Ochiai*<sup>11)</sup> bestimmt die Pepsinwirkung interferometrisch, *L. Utkin*<sup>12)</sup> durch Refraktion; *H. Holter*, *K. Linderstrom-Lang* und *J. B. Funder*<sup>13)</sup> messen die Viskositätsänderung der Substratlösung; *A. C. Munro* und *R. Seifert*<sup>14)</sup> bestimmen die Gerinnungszeit von Milch unter Pepsineinwirkung; *E. R. Theis*<sup>15)</sup> stellt fest, daß die Kontraktion tierischer Haut im System Pepsin/Wasser in Dilatation übergeht und ermittelt daraus den Pepsingehalt; *G. Dultz*<sup>16)</sup> bestimmt nephelometrisch; *K. H. Meinecke*<sup>17)</sup> gebraucht die Formoltitration; *R. M. Tomarelli*, *J. Charney* und *M. L. Harding*<sup>18)</sup> verwenden als Substrat mit diazotierter Sulfanilsäure gekuppeltes Protein und bestimmen den Pepsingehalt kolorimetrisch; *O. Hráký*<sup>19)</sup> benützt eine polarographische Arbeitstechnik; *L. Krowczynski*<sup>20)</sup> mißt die Größe der Verdauungszone in Agar-Agar-Platten und berechnet daraus den Pepsin-Gehalt, und selbst radioaktiv markiertes Serum wird von *D. W. Piper*<sup>21)</sup> als Substrat verwandt. —

Ein großer Teil dieser Bestimmungen wurde für die Untersuchung des Magensaftes entwickelt. Auch die sog. *Anson-Methode*<sup>22)</sup> <sup>23)</sup> war für diesen Zweck erarbeitet worden. Sie beruht auf folgendem Prinzip: Als Substrat dient Rinderhämoglobin\*), das im Molekül die Aminosäuren Tyrosin und Tryptophan enthält. Diese Aminosäuren werden durch die Verdauung frei, das nicht verdaute Hämoglobin wird gefällt, Tyrosin und Tryptophan bleiben in Lösung und werden mit dem Phenolreagens nach *Folin-Ciocalteu*\*\*) photometrisch bestimmt. Wir benutzten als Bezugssubstanz das „Pepsin purum, 2 × cryst. aus

\*) Hämoglobin vom Rind, Proteasensubstrat nach *Anson*: Serva Entwicklungslabor, 69 Heidelberg, Römerstr. 118.

\*\**E. Merck AG*, 61 Darmstadt; das Reagens enthält Natriumwolframat, Natriummolybdat, Lithiumsulfat, Phosphorsäure und Salzsäure.

7) *Pharmaz. Ztg.* 81, 399 (1936).

8) *Dtsch. Apotheker-Ztg.* 45, 744 (1930).

9) *Dtsch. Apotheker-Ztg.* 50, 795 (1935).

10) *Dtsch. Apotheker-Ztg.* 43, 1471 (1928).

11) *C.* 1927 II, 1184.

12) *C.* 1934 II, 2540.

13) *C.* 1932 I, 3196.

14) *C.* 1933 II, 583.

15) *C.* 1931 II, 2363.

16) *Dtsch. Apotheker-Ztg.* 53, 1550 (1938).

17) *Dtsch. Apotheker-Ztg.* 94, 190 (1954).

18) *C. A.* 43, 4324 e (1949).

19) *C. A.* 45, 5877 e (1951).

20) *C. A.* 51, 15682 d (1957).

21) *C. A.* 54, 22809 h (1960).

22) *M. L. Anson*, *J. gen. Physiol.* 22, 79 (1939).

23) *W. Rick* in *H. U. Bergmeyer*, *Methoden der enzymatischen Analyse*, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. 1962, S. 819.

Alkohol nach *Northrop, J. Gen. Physiol.* 30, 177 (1946)<sup>44</sup>\*) und stellen zusätzlich das Tyrosin-Äquivalent (s. u.) fest. Als Substrat diene folgende Lösung: 2,00 g Hämoglobin werden in einem Kolben auf 100 ml 0,06 n HCl gestreut und 12 Tropfen einer 0,4proz. Merfenlösung<sup>45</sup>\*\*) zugesetzt. Die Mischung wird von Zeit zu Zeit bis zur kolloiden Lösung geschüttelt. Die Substratlösung soll unterhalb 4° gelagert werden und bei der Messung nicht älter als 3 Tage sein. Da das kristallisierte Pepsin nach *Northrop*<sup>24</sup>) in 20proz. Äthanol bei pH 2 ziemlich stabil ist, wurde zur Aufstellung der Eichkurve eine Lösung von 0,5 mg kristallisiertem Pepsin — auf 2  $\gamma$  genau gewogen — zu 25,00 ml in folgendem „Lösungsmittel“<sup>46</sup>)<sup>47</sup>)<sup>48</sup>)<sup>49</sup>)<sup>50</sup>)<sup>51</sup>)<sup>52</sup>)<sup>53</sup>)<sup>54</sup>)<sup>55</sup>)<sup>56</sup>)<sup>57</sup>)<sup>58</sup>)<sup>59</sup>)<sup>60</sup>)<sup>61</sup>)<sup>62</sup>)<sup>63</sup>)<sup>64</sup>)<sup>65</sup>)<sup>66</sup>)<sup>67</sup>)<sup>68</sup>)<sup>69</sup>)<sup>70</sup>)<sup>71</sup>)<sup>72</sup>)<sup>73</sup>)<sup>74</sup>)<sup>75</sup>)<sup>76</sup>)<sup>77</sup>)<sup>78</sup>)<sup>79</sup>)<sup>80</sup>)<sup>81</sup>)<sup>82</sup>)<sup>83</sup>)<sup>84</sup>)<sup>85</sup>)<sup>86</sup>)<sup>87</sup>)<sup>88</sup>)<sup>89</sup>)<sup>90</sup>)<sup>91</sup>)<sup>92</sup>)<sup>93</sup>)<sup>94</sup>)<sup>95</sup>)<sup>96</sup>)<sup>97</sup>)<sup>98</sup>)<sup>99</sup>)<sup>100</sup>)<sup>101</sup>)<sup>102</sup>)<sup>103</sup>)<sup>104</sup>)<sup>105</sup>)<sup>106</sup>)<sup>107</sup>)<sup>108</sup>)<sup>109</sup>)<sup>110</sup>)<sup>111</sup>)<sup>112</sup>)<sup>113</sup>)<sup>114</sup>)<sup>115</sup>)<sup>116</sup>)<sup>117</sup>)<sup>118</sup>)<sup>119</sup>)<sup>120</sup>)<sup>121</sup>)<sup>122</sup>)<sup>123</sup>)<sup>124</sup>)<sup>125</sup>)<sup>126</sup>)<sup>127</sup>)<sup>128</sup>)<sup>129</sup>)<sup>130</sup>)<sup>131</sup>)<sup>132</sup>)<sup>133</sup>)<sup>134</sup>)<sup>135</sup>)<sup>136</sup>)<sup>137</sup>)<sup>138</sup>)<sup>139</sup>)<sup>140</sup>)<sup>141</sup>)<sup>142</sup>)<sup>143</sup>)<sup>144</sup>)<sup>145</sup>)<sup>146</sup>)<sup>147</sup>)<sup>148</sup>)<sup>149</sup>)<sup>150</sup>)<sup>151</sup>)<sup>152</sup>)<sup>153</sup>)<sup>154</sup>)<sup>155</sup>)<sup>156</sup>)<sup>157</sup>)<sup>158</sup>)<sup>159</sup>)<sup>160</sup>)<sup>161</sup>)<sup>162</sup>)<sup>163</sup>)<sup>164</sup>)<sup>165</sup>)<sup>166</sup>)<sup>167</sup>)<sup>168</sup>)<sup>169</sup>)<sup>170</sup>)<sup>171</sup>)<sup>172</sup>)<sup>173</sup>)<sup>174</sup>)<sup>175</sup>)<sup>176</sup>)<sup>177</sup>)<sup>178</sup>)<sup>179</sup>)<sup>180</sup>)<sup>181</sup>)<sup>182</sup>)<sup>183</sup>)<sup>184</sup>)<sup>185</sup>)<sup>186</sup>)<sup>187</sup>)<sup>188</sup>)<sup>189</sup>)<sup>190</sup>)<sup>191</sup>)<sup>192</sup>)<sup>193</sup>)<sup>194</sup>)<sup>195</sup>)<sup>196</sup>)<sup>197</sup>)<sup>198</sup>)<sup>199</sup>)<sup>200</sup>)<sup>201</sup>)<sup>202</sup>)<sup>203</sup>)<sup>204</sup>)<sup>205</sup>)<sup>206</sup>)<sup>207</sup>)<sup>208</sup>)<sup>209</sup>)<sup>210</sup>)<sup>211</sup>)<sup>212</sup>)<sup>213</sup>)<sup>214</sup>)<sup>215</sup>)<sup>216</sup>)<sup>217</sup>)<sup>218</sup>)<sup>219</sup>)<sup>220</sup>)<sup>221</sup>)<sup>222</sup>)<sup>223</sup>)<sup>224</sup>)<sup>225</sup>)<sup>226</sup>)<sup>227</sup>)<sup>228</sup>)<sup>229</sup>)<sup>230</sup>)<sup>231</sup>)<sup>232</sup>)<sup>233</sup>)<sup>234</sup>)<sup>235</sup>)<sup>236</sup>)<sup>237</sup>)<sup>238</sup>)<sup>239</sup>)<sup>240</sup>)<sup>241</sup>)<sup>242</sup>)<sup>243</sup>)<sup>244</sup>)<sup>245</sup>)<sup>246</sup>)<sup>247</sup>)<sup>248</sup>)<sup>249</sup>)<sup>250</sup>)<sup>251</sup>)<sup>252</sup>)<sup>253</sup>)<sup>254</sup>)<sup>255</sup>)<sup>256</sup>)<sup>257</sup>)<sup>258</sup>)<sup>259</sup>)<sup>260</sup>)<sup>261</sup>)<sup>262</sup>)<sup>263</sup>)<sup>264</sup>)<sup>265</sup>)<sup>266</sup>)<sup>267</sup>)<sup>268</sup>)<sup>269</sup>)<sup>270</sup>)<sup>271</sup>)<sup>272</sup>)<sup>273</sup>)<sup>274</sup>)<sup>275</sup>)<sup>276</sup>)<sup>277</sup>)<sup>278</sup>)<sup>279</sup>)<sup>280</sup>)<sup>281</sup>)<sup>282</sup>)<sup>283</sup>)<sup>284</sup>)<sup>285</sup>)<sup>286</sup>)<sup>287</sup>)<sup>288</sup>)<sup>289</sup>)<sup>290</sup>)<sup>291</sup>)<sup>292</sup>)<sup>293</sup>)<sup>294</sup>)<sup>295</sup>)<sup>296</sup>)<sup>297</sup>)<sup>298</sup>)<sup>299</sup>)<sup>300</sup>)<sup>301</sup>)<sup>302</sup>)<sup>303</sup>)<sup>304</sup>)<sup>305</sup>)<sup>306</sup>)<sup>307</sup>)<sup>308</sup>)<sup>309</sup>)<sup>310</sup>)<sup>311</sup>)<sup>312</sup>)<sup>313</sup>)<sup>314</sup>)<sup>315</sup>)<sup>316</sup>)<sup>317</sup>)<sup>318</sup>)<sup>319</sup>)<sup>320</sup>)<sup>321</sup>)<sup>322</sup>)<sup>323</sup>)<sup>324</sup>)<sup>325</sup>)<sup>326</sup>)<sup>327</sup>)<sup>328</sup>)<sup>329</sup>)<sup>330</sup>)<sup>331</sup>)<sup>332</sup>)<sup>333</sup>)<sup>334</sup>)<sup>335</sup>)<sup>336</sup>)<sup>337</sup>)<sup>338</sup>)<sup>339</sup>)<sup>340</sup>)<sup>341</sup>)<sup>342</sup>)<sup>343</sup>)<sup>344</sup>)<sup>345</sup>)<sup>346</sup>)<sup>347</sup>)<sup>348</sup>)<sup>349</sup>)<sup>350</sup>)<sup>351</sup>)<sup>352</sup>)<sup>353</sup>)<sup>354</sup>)<sup>355</sup>)<sup>356</sup>)<sup>357</sup>)<sup>358</sup>)<sup>359</sup>)<sup>360</sup>)<sup>361</sup>)<sup>362</sup>)<sup>363</sup>)<sup>364</sup>)<sup>365</sup>)<sup>366</sup>)<sup>367</sup>)<sup>368</sup>)<sup>369</sup>)<sup>370</sup>)<sup>371</sup>)<sup>372</sup>)<sup>373</sup>)<sup>374</sup>)<sup>375</sup>)<sup>376</sup>)<sup>377</sup>)<sup>378</sup>)<sup>379</sup>)<sup>380</sup>)<sup>381</sup>)<sup>382</sup>)<sup>383</sup>)<sup>384</sup>)<sup>385</sup>)<sup>386</sup>)<sup>387</sup>)<sup>388</sup>)<sup>389</sup>)<sup>390</sup>)<sup>391</sup>)<sup>392</sup>)<sup>393</sup>)<sup>394</sup>)<sup>395</sup>)<sup>396</sup>)<sup>397</sup>)<sup>398</sup>)<sup>399</sup>)<sup>400</sup>)<sup>401</sup>)<sup>402</sup>)<sup>403</sup>)<sup>404</sup>)<sup>405</sup>)<sup>406</sup>)<sup>407</sup>)<sup>408</sup>)<sup>409</sup>)<sup>410</sup>)<sup>411</sup>)<sup>412</sup>)<sup>413</sup>)<sup>414</sup>)<sup>415</sup>)<sup>416</sup>)<sup>417</sup>)<sup>418</sup>)<sup>419</sup>)<sup>420</sup>)<sup>421</sup>)<sup>422</sup>)<sup>423</sup>)<sup>424</sup>)<sup>425</sup>)<sup>426</sup>)<sup>427</sup>)<sup>428</sup>)<sup>429</sup>)<sup>430</sup>)<sup>431</sup>)<sup>432</sup>)<sup>433</sup>)<sup>434</sup>)<sup>435</sup>)<sup>436</sup>)<sup>437</sup>)<sup>438</sup>)<sup>439</sup>)<sup>440</sup>)<sup>441</sup>)<sup>442</sup>)<sup>443</sup>)<sup>444</sup>)<sup>445</sup>)<sup>446</sup>)<sup>447</sup>)<sup>448</sup>)<sup>449</sup>)<sup>450</sup>)<sup>451</sup>)<sup>452</sup>)<sup>453</sup>)<sup>454</sup>)<sup>455</sup>)<sup>456</sup>)<sup>457</sup>)<sup>458</sup>)<sup>459</sup>)<sup>460</sup>)<sup>461</sup>)<sup>462</sup>)<sup>463</sup>)<sup>464</sup>)<sup>465</sup>)<sup>466</sup>)<sup>467</sup>)<sup>468</sup>)<sup>469</sup>)<sup>470</sup>)<sup>471</sup>)<sup>472</sup>)<sup>473</sup>)<sup>474</sup>)<sup>475</sup>)<sup>476</sup>)<sup>477</sup>)<sup>478</sup>)<sup>479</sup>)<sup>480</sup>)<sup>481</sup>)<sup>482</sup>)<sup>483</sup>)<sup>484</sup>)<sup>485</sup>)<sup>486</sup>)<sup>487</sup>)<sup>488</sup>)<sup>489</sup>)<sup>490</sup>)<sup>491</sup>)<sup>492</sup>)<sup>493</sup>)<sup>494</sup>)<sup>495</sup>)<sup>496</sup>)<sup>497</sup>)<sup>498</sup>)<sup>499</sup>)<sup>500</sup>)<sup>501</sup>)<sup>502</sup>)<sup>503</sup>)<sup>504</sup>)<sup>505</sup>)<sup>506</sup>)<sup>507</sup>)<sup>508</sup>)<sup>509</sup>)<sup>510</sup>)<sup>511</sup>)<sup>512</sup>)<sup>513</sup>)<sup>514</sup>)<sup>515</sup>)<sup>516</sup>)<sup>517</sup>)<sup>518</sup>)<sup>519</sup>)<sup>520</sup>)<sup>521</sup>)<sup>522</sup>)<sup>523</sup>)<sup>524</sup>)<sup>525</sup>)<sup>526</sup>)<sup>527</sup>)<sup>528</sup>)<sup>529</sup>)<sup>530</sup>)<sup>531</sup>)<sup>532</sup>)<sup>533</sup>)<sup>534</sup>)<sup>535</sup>)<sup>536</sup>)<sup>537</sup>)<sup>538</sup>)<sup>539</sup>)<sup>540</sup>)<sup>541</sup>)<sup>542</sup>)<sup>543</sup>)<sup>544</sup>)<sup>545</sup>)<sup>546</sup>)<sup>547</sup>)<sup>548</sup>)<sup>549</sup>)<sup>550</sup>)<sup>551</sup>)<sup>552</sup>)<sup>553</sup>)<sup>554</sup>)<sup>555</sup>)<sup>556</sup>)<sup>557</sup>)<sup>558</sup>)<sup>559</sup>)<sup>560</sup>)<sup>561</sup>)<sup>562</sup>)<sup>563</sup>)<sup>564</sup>)<sup>565</sup>)<sup>566</sup>)<sup>567</sup>)<sup>568</sup>)<sup>569</sup>)<sup>570</sup>)<sup>571</sup>)<sup>572</sup>)<sup>573</sup>)<sup>574</sup>)<sup>575</sup>)<sup>576</sup>)<sup>577</sup>)<sup>578</sup>)<sup>579</sup>)<sup>580</sup>)<sup>581</sup>)<sup>582</sup>)<sup>583</sup>)<sup>584</sup>)<sup>585</sup>)<sup>586</sup>)<sup>587</sup>)<sup>588</sup>)<sup>589</sup>)<sup>590</sup>)<sup>591</sup>)<sup>592</sup>)<sup>593</sup>)<sup>594</sup>)<sup>595</sup>)<sup>596</sup>)<sup>597</sup>)<sup>598</sup>)<sup>599</sup>)<sup>600</sup>)<sup>601</sup>)<sup>602</sup>)<sup>603</sup>)<sup>604</sup>)<sup>605</sup>)<sup>606</sup>)<sup>607</sup>)<sup>608</sup>)<sup>609</sup>)<sup>610</sup>)<sup>611</sup>)<sup>612</sup>)<sup>613</sup>)<sup>614</sup>)<sup>615</sup>)<sup>616</sup>)<sup>617</sup>)<sup>618</sup>)<sup>619</sup>)<sup>620</sup>)<sup>621</sup>)<sup>622</sup>)<sup>623</sup>)<sup>624</sup>)<sup>625</sup>)<sup>626</sup>)<sup>627</sup>)<sup>628</sup>)<sup>629</sup>)<sup>630</sup>)<sup>631</sup>)<sup>632</sup>)<sup>633</sup>)<sup>634</sup>)<sup>635</sup>)<sup>636</sup>)<sup>637</sup>)<sup>638</sup>)<sup>639</sup>)<sup>640</sup>)<sup>641</sup>)<sup>642</sup>)<sup>643</sup>)<sup>644</sup>)<sup>645</sup>)<sup>646</sup>)<sup>647</sup>)<sup>648</sup>)<sup>649</sup>)<sup>650</sup>)<sup>651</sup>)<sup>652</sup>)<sup>653</sup>)<sup>654</sup>)<sup>655</sup>)<sup>656</sup>)<sup>657</sup>)<sup>658</sup>)<sup>659</sup>)<sup>660</sup>)<sup>661</sup>)<sup>662</sup>)<sup>663</sup>)<sup>664</sup>)<sup>665</sup>)<sup>666</sup>)<sup>667</sup>)<sup>668</sup>)<sup>669</sup>)<sup>670</sup>)<sup>671</sup>)<sup>672</sup>)<sup>673</sup>)<sup>674</sup>)<sup>675</sup>)<sup>676</sup>)<sup>677</sup>)<sup>678</sup>)<sup>679</sup>)<sup>680</sup>)<sup>681</sup>)<sup>682</sup>)<sup>683</sup>)<sup>684</sup>)<sup>685</sup>)<sup>686</sup>)<sup>687</sup>)<sup>688</sup>)<sup>689</sup>)<sup>690</sup>)<sup>691</sup>)<sup>692</sup>)<sup>693</sup>)<sup>694</sup>)<sup>695</sup>)<sup>696</sup>)<sup>697</sup>)<sup>698</sup>)<sup>699</sup>)<sup>700</sup>)<sup>701</sup>)<sup>702</sup>)<sup>703</sup>)<sup>704</sup>)<sup>705</sup>)<sup>706</sup>)<sup>707</sup>)<sup>708</sup>)<sup>709</sup>)<sup>710</sup>)<sup>711</sup>)<sup>712</sup>)<sup>713</sup>)<sup>714</sup>)<sup>715</sup>)<sup>716</sup>)<sup>717</sup>)<sup>718</sup>)<sup>719</sup>)<sup>720</sup>)<sup>721</sup>)<sup>722</sup>)<sup>723</sup>)<sup>724</sup>)<sup>725</sup>)<sup>726</sup>)<sup>727</sup>)<sup>728</sup>)<sup>729</sup>)<sup>730</sup>)<sup>731</sup>)<sup>732</sup>)<sup>733</sup>)<sup>734</sup>)<sup>735</sup>)<sup>736</sup>)<sup>737</sup>)<sup>738</sup>)<sup>739</sup>)<sup>740</sup>)<sup>741</sup>)<sup>742</sup>)<sup>743</sup>)<sup>744</sup>)<sup>745</sup>)<sup>746</sup>)<sup>747</sup>)<sup>748</sup>)<sup>749</sup>)<sup>750</sup>)<sup>751</sup>)<sup>752</sup>)<sup>753</sup>)<sup>754</sup>)<sup>755</sup>)<sup>756</sup>)<sup>757</sup>)<sup>758</sup>)<sup>759</sup>)<sup>760</sup>)<sup>761</sup>)<sup>762</sup>)<sup>763</sup>)<sup>764</sup>)<sup>765</sup>)<sup>766</sup>)<sup>767</sup>)<sup>768</sup>)<sup>769</sup>)<sup>770</sup>)<sup>771</sup>)<sup>772</sup>)<sup>773</sup>)<sup>774</sup>)<sup>775</sup>)<sup>776</sup>)<sup>777</sup>)<sup>778</sup>)<sup>779</sup>)<sup>780</sup>)<sup>781</sup>)<sup>782</sup>)<sup>783</sup>)<sup>784</sup>)<sup>785</sup>)<sup>786</sup>)<sup>787</sup>)<sup>788</sup>)<sup>789</sup>)<sup>790</sup>)<sup>791</sup>)<sup>792</sup>)<sup>793</sup>)<sup>794</sup>)<sup>795</sup>)<sup>796</sup>)<sup>797</sup>)<sup>798</sup>)<sup>799</sup>)<sup>800</sup>)<sup>801</sup>)<sup>802</sup>)<sup>803</sup>)<sup>804</sup>)<sup>805</sup>)<sup>806</sup>)<sup>807</sup>)<sup>808</sup>)<sup>809</sup>)<sup>810</sup>)<sup>811</sup>)<sup>812</sup>)<sup>813</sup>)<sup>814</sup>)<sup>815</sup>)<sup>816</sup>)<sup>817</sup>)<sup>818</sup>)<sup>819</sup>)<sup>820</sup>)<sup>821</sup>)<sup>822</sup>)<sup>823</sup>)<sup>824</sup>)<sup>825</sup>)<sup>826</sup>)<sup>827</sup>)<sup>828</sup>)<sup>829</sup>)<sup>830</sup>)<sup>831</sup>)<sup>832</sup>)<sup>833</sup>)<sup>834</sup>)<sup>835</sup>)<sup>836</sup>)<sup>837</sup>)<sup>838</sup>)<sup>839</sup>)<sup>840</sup>)<sup>841</sup>)<sup>842</sup>)<sup>843</sup>)<sup>844</sup>)<sup>845</sup>)<sup>846</sup>)<sup>847</sup>)<sup>848</sup>)<sup>849</sup>)<sup>850</sup>)<sup>851</sup>)<sup>852</sup>)<sup>853</sup>)<sup>854</sup>)<sup>855</sup>)<sup>856</sup>)<sup>857</sup>)<sup>858</sup>)<sup>859</sup>)<sup>860</sup>)<sup>861</sup>)<sup>862</sup>)<sup>863</sup>)<sup>864</sup>)<sup>865</sup>)<sup>866</sup>)<sup>867</sup>)<sup>868</sup>)<sup>869</sup>)<sup>870</sup>)<sup>871</sup>)<sup>872</sup>)<sup>873</sup>)<sup>874</sup>)<sup>875</sup>)<sup>876</sup>)<sup>877</sup>)<sup>878</sup>)<sup>879</sup>)<sup>880</sup>)<sup>881</sup>)<sup>882</sup>)<sup>883</sup>)<sup>884</sup>)<sup>885</sup>)<sup>886</sup>)<sup>887</sup>)<sup>888</sup>)<sup>889</sup>)<sup>890</sup>)<sup>891</sup>)<sup>892</sup>)<sup>893</sup>)<sup>894</sup>)<sup>895</sup>)<sup>896</sup>)<sup>897</sup>)<sup>898</sup>)<sup>899</sup>)<sup>900</sup>)<sup>901</sup>)<sup>902</sup>)<sup>903</sup>)<sup>904</sup>)<sup>905</sup>)<sup>906</sup>)<sup>907</sup>)<sup>908</sup>)<sup>909</sup>)<sup>910</sup>)<sup>911</sup>)<sup>912</sup>)<sup>913</sup>)<sup>914</sup>)<sup>915</sup>)<sup>916</sup>)<sup>917</sup>)<sup>918</sup>)<sup>919</sup>)<sup>920</sup>)<sup>921</sup>)<sup>922</sup>)<sup>923</sup>)<sup>924</sup>)<sup>925</sup>)<sup>926</sup>)<sup>927</sup>)<sup>928</sup>)<sup>929</sup>)<sup>930</sup>)<sup>931</sup>)<sup>932</sup>)<sup>933</sup>)<sup>934</sup>)<sup>935</sup>)<sup>936</sup>)<sup>937</sup>)<sup>938</sup>)<sup>939</sup>)<sup>940</sup>)<sup>941</sup>)<sup>942</sup>)<sup>943</sup>)<sup>944</sup>)<sup>945</sup>)<sup>946</sup>)<sup>947</sup>)<sup>948</sup>)<sup>949</sup>)<sup>950</sup>)<sup>951</sup>)<sup>952</sup>)<sup>953</sup>)<sup>954</sup>)<sup>955</sup>)<sup>956</sup>)<sup>957</sup>)<sup>958</sup>)<sup>959</sup>)<sup>960</sup>)<sup>961</sup>)<sup>962</sup>)<sup>963</sup>)<sup>964</sup>)<sup>965</sup>)<sup>966</sup>)<sup>967</sup>)<sup>968</sup>)<sup>969</sup>)<sup>970</sup>)<sup>971</sup>)<sup>972</sup>)<sup>973</sup>)<sup>974</sup>)<sup>975</sup>)<sup>976</sup>)<sup>977</sup>)<sup>978</sup>)<sup>979</sup>)<sup>980</sup>)<sup>981</sup>)<sup>982</sup>)<sup>983</sup>)<sup>984</sup>)<sup>985</sup>)<sup>986</sup>)<sup>987</sup>)<sup>988</sup>)<sup>989</sup>)<sup>990</sup>)<sup>991</sup>)<sup>992</sup>)<sup>993</sup>)<sup>994</sup>)<sup>995</sup>)<sup>996</sup>)<sup>997</sup>)<sup>998</sup>)<sup>999</sup>)<sup>1000</sup>)<sup>1001</sup>)<sup>1002</sup>)<sup>1003</sup>)<sup>1004</sup>)<sup>1005</sup>)<sup>1006</sup>)<sup>1007</sup>)<sup>1008</sup>)<sup>1009</sup>)<sup>1010</sup>)<sup>1011</sup>)<sup>1012</sup>)<sup>1013</sup>)<sup>1014</sup>)<sup>1015</sup>)<sup>1016</sup>)<sup>1017</sup>)<sup>1018</sup>)<sup>1019</sup>)<sup>1020</sup>)<sup>1021</sup>)<sup>1022</sup>)<sup>1023</sup>)<sup>1024</sup>)<sup>1025</sup>)<sup>1026</sup>)<sup>1027</sup>)<sup>1028</sup>)<sup>1029</sup>)<sup>1030</sup>)<sup>1031</sup>)<sup>1032</sup>)<sup>1033</sup>)<sup>1034</sup>)<sup>1035</sup>)<sup>1036</sup>)<sup>1037</sup>)<sup>1038</sup>)<sup>1039</sup>)<sup>1040</sup>)<sup>1041</sup>)<sup>1042</sup>)<sup>1043</sup>)<sup>1044</sup>)<sup>1045</sup>)<sup>1046</sup>)<sup>1047</sup>)<sup>1048</sup>)<sup>1049</sup>)<sup>1050</sup>)<sup>1051</sup>)<sup>1052</sup>)<sup>1053</sup>)<sup>1054</sup>)<sup>1055</sup>)<sup>1056</sup>)<sup>1057</sup>)<sup>1058</sup>)<sup>1059</sup>)<sup>1060</sup>)<sup>1061</sup>)<sup>1062</sup>)<sup>1063</sup>)<sup>1064</sup>)<sup>1065</sup>)<sup>1066</sup>)<sup>1067</sup>)<sup>1068</sup>)<sup>1069</sup>)<sup>1070</sup>)<sup>1071</sup>)<sup>1072</sup>)<sup>1073</sup>)<sup>1074</sup>)<sup>1075</sup>)<sup>1076</sup>)<sup>1077</sup>)<sup>1078</sup>)<sup>1079</sup>)<sup>1080</sup>)<sup>1081</sup>)<sup>1082</sup>)<sup>1083</sup>)<sup>1084</sup>)<sup>1085</sup>)<sup>1086</sup>)<sup>1087</sup>)<sup>1088</sup>)<sup>1089</sup>)<sup>1090</sup>)<sup>1091</sup>)<sup>1092</sup>)<sup>1093</sup>)<sup>1094</sup>)<sup>1095</sup>)<sup>1096</sup>)<sup>1097</sup>)<sup>1098</sup>)<sup>1099</sup>)<sup>1100</sup>)<sup>1101</sup>)<sup>1102</sup>)<sup>1103</sup>)<sup>1104</sup>)<sup>1105</sup>)<sup>1106</sup>)<sup>1107</sup>)<sup>1108</sup>)<sup>1109</sup>)<sup>1110</sup>)<sup>1111</sup>)<sup>1112</sup>)<sup>1113</sup>)<sup>1114</sup>)<sup>1115</sup>)<sup>1116</sup>)<sup>1117</sup>)<sup>1118</sup>)<sup>1119</sup>)<sup>1120</sup>)<sup>1121</sup>)<sup>1122</sup>)<sup>1123</sup>)<sup>1124</sup>)<sup>1125</sup>)<sup>1126</sup>)<sup>1127</sup>)<sup>1128</sup>)<sup>1129</sup>)<sup>1130</sup>)<sup>1131</sup>)<sup>1132</sup>)<sup>1133</sup>)<sup>1134</sup>)<sup>1135</sup>)<sup>1136</sup>)<sup>1137</sup>)<sup>1138</sup>)<sup>1139</sup>)<sup>1140</sup>)<sup>1141</sup>)<sup>1142</sup>)<sup>1143</sup>)<sup>1144</sup>)<sup>1145</sup>)<sup>1146</sup>)<sup>1147</sup>)<sup>1148</sup>)<sup>1149</sup>)<sup>1150</sup>)<sup>1151</sup>)<sup>1152</sup>)<sup>1153</sup>)<sup>1154</sup>)<sup>1155</sup>)<sup>1156</sup>)<sup>1157</sup>)<sup>1158</sup>)<sup>1159</sup>)<sup>1160</sup>)<sup>1161</sup>)<sup>1162</sup>)<sup>1163</sup>)<sup>1164</sup>)<sup>1165</sup>)<sup>1166</sup>)<sup>1167</sup>)<sup>1168</sup>)<sup>1169</sup>)<sup>1170</sup>)<sup>1171</sup>)<sup>1172</sup>)<sup>1173</sup>)<sup>1174</sup>)<sup>1175</sup>)<sup>1176</sup>)<sup>1177</sup>)<sup>1178</sup>)<sup>1179</sup>)<sup>1180</sup>)<sup>1181</sup>)<sup>1182</sup>)<sup>1183</sup>)<sup>1184</sup>)<sup>1185</sup>)<sup>1186</sup>)<sup>1187</sup>)<sup>1188</sup>)<sup>1189</sup>)<sup>1190</sup>)<sup>1191</sup>)<sup>1192</sup>)<sup>1193</sup>)<sup>1194</sup>)<sup>1195</sup>)<sup>1196</sup>)<sup>1197</sup>)<sup>1198</sup>)<sup>1199</sup>)<sup>1200</sup>)<sup>1201</sup>)<sup>1202</sup>)<sup>1203</sup>)<sup>1204</sup>)<sup>1205</sup>)<sup>1206</sup>)<sup>1207</sup>)<sup>1208</sup>)<sup>1209</sup>)<sup>1210</sup>)<sup>1211</sup>)<sup>1212</sup>)<sup>1213</sup>)<sup>1214</sup>)<sup>1215</sup>)<sup>1216</sup>)<sup>1217</sup>)<sup>1218</sup>)<sup>1219</sup>)<sup>1220</sup>)<sup>1221</sup>)<sup>1222</sup>)<sup>1223</sup>)<sup>1224</sup>)<sup>1225</sup>)<sup>1226</sup>)<sup>1227</sup>)<sup>1228</sup>)<sup>1229</sup>)<sup>1230</sup>)<sup>1231</sup>)<sup>1232</sup>)<sup>1233</sup>)<sup>1234</sup>)<sup>1235</sup>)<sup>1236</sup>)<sup>1237</sup>)<sup>1238</sup>)<sup>1239</sup>)<sup>1240</sup>)<sup>1241</sup>)<sup>1242</sup>)<sup>1243</sup>)<sup>1244</sup>)<sup>1245</sup>)<sup>1246</sup>)<sup>1247</sup>)<sup>1248</sup>)<sup>1249</sup>)<sup>1250</sup>)<sup>1251</sup>)<sup>1252</sup>)<sup>1253</sup>)<sup>1254</sup>)<sup>1255</sup>)<sup>1256</sup>)<sup>1257</sup>)<sup>1258</sup>)<sup>1259</sup>)<sup>1260</sup>)<sup>1261</sup>)<sup>1262</sup>)<sup>1263</sup>)<sup>1264</sup>)<sup>1265</sup>)<sup>1266</sup>)<sup>1267</sup>)<sup>1268</sup>)<sup>1269</sup>)<sup>1270</sup>)<sup>1271</sup>)<sup>1272</sup>)<sup>1273</sup>)<sup>1274</sup>)<sup>1275</sup>)<sup>1276</sup>)<sup>1277</sup>)<sup>1278</sup>)<sup>1279</sup>)<sup>1280</sup>)<sup>1281</sup>)<sup>1282</sup>)<sup>1283</sup>)<sup>1284</sup>)<sup>1285</sup>)<sup>1286</sup>)<sup>1287</sup>)<sup>1288</sup>)<sup>1289</sup>)<sup>1290</sup>)<sup>1291</sup>)<sup>1292</sup>)<sup>1293</sup>)<sup>1294</sup>)<sup>1295</sup>)<sup>1296</sup>)<sup>1297</sup>)<sup>1298</sup>)<sup>1299</sup>)<sup>1300</sup>)<sup>1301</sup>)<sup>1302</sup>)<sup>1303</sup>)<sup>1304</sup>)<sup>1305</sup>)<sup>1306</sup>)<sup>1307</sup>)<sup>1308</sup>)<sup>1309</sup>)<sup>1310</sup>)<sup>1311</sup>)<sup>1312</sup>)<sup>1313</sup>)<sup>1314</sup>)<sup>1315</sup>)<sup>1316</sup>)<sup>1317</sup>)<sup>1318</sup>)<sup>1319</sup>)<sup>1320</sup>)<sup>1321</sup>)<sup>1322</sup>)<sup>1323</sup>)<sup>1324</sup>)<sup>1325</sup>)<sup>1326</sup>)<sup>1327</sup>)<sup>1328</sup>)<sup>1329</sup>)<sup>1330</sup>)<sup>1331</sup>)<sup>1332</sup>)<sup>1333</sup>)<sup>1334</sup>)<sup>1335</sup>)<sup>1336</sup>)<sup>1337</sup>)<sup>1338</sup>)<sup>1339</sup>)<sup>1340</sup>)<sup>1341</sup>)<sup>1342</sup>)<sup>1343</sup>)<sup>1344</sup>)<sup>1345</</sup>

**Arbeitsplan**

1. Min.            Enzymzugabe zu Leeransatz 1
2. Min.            Enzymzugabe zu Hauptansatz 1
- ⋮
7. Min.            Enzymzugabe zu Leeransatz 2
8. Min.            Enzymzugabe zu Hauptansatz 2
9. Min.            Abfiltrieren Leeransatz 1
10. Min.           Trichloressigsäure zu Hauptansatz 1, schütteln, filtrieren
- 11.—13. Min.      Zugabe von je 5,00 ml Filtrat in die Vorlagen für Haupt- und Leeransatz
14. Min.           Enzymzugabe zu Leeransatz 3
- ⋮

Nach Abschluß der Enzymreaktion bei sämtlichen Einzelsätzen werden sofort die Farbreaktionen durchgeführt. Es ist darauf zu achten, daß zwischen den Reagenszugaben zu Leer- und Hauptansatz nicht mehr als  $\frac{1}{2}$  Min. liegt. Auf diese Weise gelingt es, den Gehalt galenischer Pepsinzubereitungen exakt zu bestimmen.

Auf folgende Fehlermöglichkeiten, deren Auswirkungen nicht selbstverständlich sind, sei besonders hingewiesen:

1. Werden die Haupt- und Leeransätze nicht sofort nach der Unterbrechung der Enzymprozesse in den Hauptansätzen filtriert und alkalisiert, so resultieren bei gleichen Pepsinwaagen niedrigere Extinktionen beim Messen der Haupt- gegen die Leerwerte. Bei Pepsinwein-Bestimmungen erhält man außerdem stark schwankende Werte.

Einwaagen Pepsin	Extinktionen	
	sofort	nach 1 Std. filtriert und alkalisiert
5 $\gamma$	0,148	0,120
10 $\gamma$	0,255	0,215
15 $\gamma$	0,360	0,310

Die Ursache für diese Erscheinungen ist uns noch nicht mit Sicherheit bekannt.

2. Bei der Gehaltsbestimmung des Pepsinweins können z. B. die Gerbstoffe des Ansatzweines die Ergebnisse beeinflussen. Die Gerbstoffe können aus dem fertigen Pepsinwein nicht mehr entfernt werden, ohne daß dessen Verdauungskraft beeinträchtigt (verdauliche Schönungsmittel) oder das Enzym — möglicherweise durch Reaktion des Gerbstoff-Fällungsmittels (Schwermetallsalz) mit schwefelhaltigen Aminosäuren im Enzymmolekül — inaktiviert wird.

Nach *W. Diemair, J. Janecke* und *G. Krieger*<sup>25)</sup> wird der Gerbstoffgehalt in Weinen mit einem Reagens bestimmt, das ebenfalls Natriumwolframat, Phosphorsäure und Alkali enthält. Daher resultieren bei den Bestimmungen der Pepsinwein-Verdauungsaktivitäten Leerwerte, die nur durch exaktes Einhalten der Versuchsbedingungen konstant erhalten werden.

Obwohl nach *W. Rick*<sup>25)</sup> keine lineare Proportionalität zwischen Enzymmenge und Substrat besteht, führt die Einwirkung von kristallisiertem Pepsin auf eine nur lproz.

<sup>25)</sup> *Z. analyt. Chem.* 133, 346 (1951); zitiert nach *E. Vogt*, Weinchemie und Weinanalyse, Verlag E. Ulmer, Stuttgart 1953, S. 277.

Hämoglobin-Lösung zu Werten, die nur geringfügig von denen abweichen, die beim Ansatz mit 2proz. Hämoglobin-Lösung erhalten werden (Abb. 1, eingekreiste Punkte).

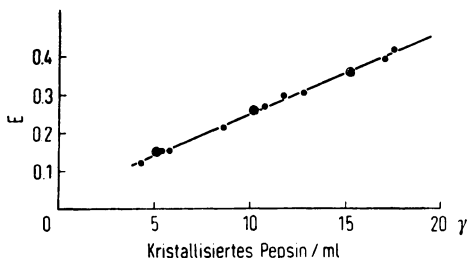


Abb. 1

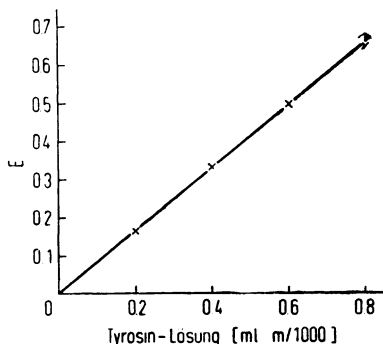


Abb. 2

### Tyrosin-Äquivalent

Ein direktes Maß für die Pepsinaktivität ist die Menge an Tyrosin-Tryptophan, die aus dem Hämoglobin unter der Pepsineinwirkung frei wird. Man kann daher aus der gemessenen Extinktion unter Bezug auf eine Tyrosin-Eichkurve (Abb. 2) die Verdauungskraft (VK) der zu untersuchenden Pepsinpräparate ermitteln. Vorteilhaft ist, daß ein konstantes Bezugspräparat im Handel ist, das zu einer stabilen Eichlösung verarbeitet werden kann. Die Tyrosin-Eichkurve wird nach *W. Rick*<sup>23)</sup> aufgestellt, die Farbintensität genau nach 5 Min. gemessen.

### Berechnungsbeispiele

#### a) bezogen auf kristallisiertes Pepsin

Es wurden 1,00 ml Pepsinwein-Verdünnung (2 : 25) zum Substrat gegeben, gemessen wurde  $E = 0,271$ . Dieser Extinktion entsprechen 10,8  $\gamma$  kristallisiertes Pepsin / ml Lösung. 1 ml Pepsinwein hat demnach unter Standardbedingungen die VK von 135  $\gamma$  kristallisiertem Pepsin.

#### b) bezogen auf Tyrosin

1,345 mg Pepsin „10000fach“ wurden zu 25,00 ml gelöst; 1 ml Lösung (53,8  $\gamma$ ) wurde zum Substrat hinzugegeben und  $E = 0,325$  gemessen, entsprechend 0,395 ml 0,001 m Tyrosin-Lösung pro Farbansatz. Demnach erzeugt 1 mg Pepsin „10000fach“ rein rechnerisch bei der Verdauung des Hämoglobins unter Standardbedingungen die 7,3 ml Tyrosin-Lösung äquivalente Menge an Tyrosin-Tryptophan.

### Ergebnisse

In der folgenden Tabelle sind unsere Ergebnisse zusammengefaßt. Die VK gibt an, wieviel Gamma kristallisiertes Pepsin jeweils einem mg der Pepsin-Muster bzw. einem ml Pepsin-Wein entsprechen. — Das Tyrosin-Äquivalent sagt aus, wieviele ml 0,001 m Tyrosin-Lösung<sup>23)</sup> pro Farbansatz den Mengen an Tyrosin-Tryptophan entsprechen, die durch jeweils ein mg der verschiedenen Pepsine bzw. durch ein ml Pepsin-Wein freigesetzt wurden. Alle Werte gelten nur für die hier beschriebene Methode.

## Vk, bezogen auf krist. Pepsin

Muster	Beleganalysen	Mittelwert	Tyrosin-Äquivalent
Pepsin DAB 6 100fach	8,40; 8,34; 7,98; 8,21; 8,34; 8,21; 8,37	8,3	0,24
Pepsin ÖAB 9 2500fach	59,4; 59,4; 58,2; 62,2; 62,1; 59,4; 61,7	60	1,8
Pepsin 10000fach	240; 252; 245; 245; 238; 236; 234; 238	242	7,3
Pepsinwein a)	173; 175; 174; 176; 176; 176	175	5,2
Pepsinwein b)	136; 132; 135; 136; 132; 134; 136	135	4,1
Pepsinwein c)	94; 91; 94; 92; 95; 93; 96	94	3,0

Diese Ergebnisse zeigen, daß die Methode Werte liefert, die weniger als  $\pm 5\%$  vom Mittelwert abweichen. Damit ist die an ein enzymatisches Analysenverfahren zu stellende Genauigkeitsanforderung erfüllt<sup>26)</sup>.

Wir danken Herrn Prof. Dr. Dr. E. Soos, Wien, für ein Muster ÖAB 9-Pepsin und der Fa. *Blücher-Schering & Co.*, Lübeck, für die großzügige finanzielle Förderung dieser Arbeit.

<sup>26)</sup> H. U. Bergmeyer in H. U. Bergmeyer, Methoden der enzymatischen Analyse (vgl. <sup>23)</sup>), S. 9.