



Die Verdauungs-Enzyme bei einigen Cephalopoden

<https://hdl.handle.net/1874/321444>

DIE VERDAUUNGS-ENZYME
BEI
EINIGEN CEPHALOPODEN

s.
ht

DIE VERDAUUNGS-ENZYME BEI EINIGEN
CEPHALOPODEN

RIJKSUNIVERSITEIT TE UTRECHT



1906 3423

Diss Utrecht 1935

DIE VERDAUUNGS-ENZYME BEI
EINIGEN CEPHALOPODEN

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN
DE GRAAD VAN DOCTOR IN DE WIS- EN NATUURKUNDE
AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT,
OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS Dr. H. BOLKESTEIN,
HOOGLERAAR IN DE
FACULTEIT DER LETTEREN EN WIJSBEGEERTE,
VOLGENS BESLUIT VAN DE SENAAAT DER UNIVERSITEIT
TE VERDEDIGEN TEGEN DE BEDENKINGEN
VAN DE FACULTEIT DER WIS- EN NATUURKUNDE
OP MAANDAG 1 JULI 1935, DES NAMIDDAGS TE 3 UUR

DOOR

CHRISTIAAN ROMIJN

GEBOREN TE DOMBURG

★

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

Aan mijn Ouders
Aan mijn Vrouw

Gaarne maak ik van de gelegenheid, die het schrijven van mijn proefschrift mij biedt, gebruik, om mijn welgemeende dank te betuigen aan allen die medegewerkt hebben aan mijn wetenschappelijke vorming.

In het bijzonder ben ik mijn ouders dankbaar voor het feit, dat zij mij de gelegenheid tot studeren geboden hebben.

Hooggeleerde JORDAN, Hooggeachte Promotor, vanaf het oogenblik, dat ik Uw colleges volgde voelde ik mij sterk tot de Vergelijkende Physiologie aangetrokken; Uw boeiende wijze van doceren is beslissend geweest voor de keuze van mijn studierichting. Aan de tijd waarin ik op Uw laboratorium als assistent werkzaam ben geweest, heb ik de meest aangename herinneringen, terwijl het vertrouwen, dat U in mij stelde door mij geheel vrij te laten in het bewerken van mijn dissertatie nooit genoeg door mij gewaardeerd kan worden.

Ook U, Mevrouw JORDAN, dank ik voor de verleende gastrijheid.

Hooggeleerde NIERSTRASZ, met genoegen denk ik terug aan de tijd waarin ik Uw vaak geestige, maar vooral critische colleges heb kunnen volgen en blijf een prettige herinnering behouden aan het practisch werk in Uw laboratorium.

Hooggeleerde WENT, de problemen der plantenphysiologie hebben steeds mijn bijzondere belangstelling gehad, dank zij Uw heldere colleges en bezielende leiding bij het laboratoriumonderzoek.

U, Hooggeleerde ROOS, ben ik zeer veel dank verschuldigd voor het beschikbaar stellen van de nodige tijd ter voltooiing van mijn proefschrift; Uw voortdurende belangstelling in de physiologische problemen bij de ongewervelde dieren is door mij op hogen prijs gesteld.

Hooggeleerde KRUYT, door U is het mij duidelijk geworden van welk een grote betekenis de kolloidchemie is voor de oplossing van biologische problemen.

Zeegeleerde VONK, zeer veel dank ben ik U verschuldigd voor de morele en daadwerkelijke steun, die ik van U heb mogen ontvangen, niet in het minst bij het bewerken van dit proefschrift.

Zeegeleerde VERWEY, een woord van dank voor het keurige materiaal, dat U mij steeds hebt weten te verschaffen is hier zeker op zijn plaats.

Tenslotte mag ik niet nalaten mijn bijzondere tevredenheid te betuigen over de keurige wijze waarop U, waarde DEKKER, de figuren hebt verzorgd en U, waarde Mej. VAN LINGEN voor het verzorgen van de tekst.

DIE VERDAUUNGSENZYME BEI EINIGEN CEPHALOPODEN

VON

C. ROMIJN.

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
Einführung	1
Abschnitt I. Material, Methodik	5
Abschnitt II. Die Speicheldrüsen	8
A. Schleimsekretion	8
B. Der Speichel als Gift	9
C. Die Absonderung von Enzymen	11
Abschnitt III. Die Mitteldarmdrüsen und der Magensaft	16
A. Lipasen	16
B. Proteasen	21
C. Labwirkung	44
D. Karbohydrasen	45
Abschnitt IV. Schlussbetrachtung, Zusammenfassung	56
Literaturverzeichnis	58

EINFÜHRUNG.

Eine historische Übersicht über die bis jetzt bekannten Tatsachen der Verdauungsphysiologie der Wirbellosen ist öfters an anderer Stelle ¹⁾ gegeben worden; es genügt hier also einige theoretische Fragen zu erörtern, welche meiner Arbeit zu Grunde liegen.

Zuerst kann man beim Studium der vergleichenden Physiologie der Verdauung die Probleme in rein chemisch-physiologischer Hinsicht betrachten und sich beschränken auf eine vergleichende Untersuchung nach Art und Wirkungsweise der verschiedenen Enzyme bei mehreren Tiergruppen, welche unsere Einsicht in den Bau u.s.w. der in allen Hinsichten so spezifischen organischen Katalysatoren sehr ergänzen wird.

¹⁾ MANSOUR-BEK (1932) und JORDAN (1913, 1927).

Eine andere Betrachtungsweise ist diejenige, nach welcher man die enzymatischen Prozesse bei einem Tiere oder einer Tiergruppe in Zusammenhang mit dem Organisationstypus oder den Lebensverhältnissen zu sehen versucht um die eigentliche Biologie dieses Tieres oder dieser Gruppe zu verstehen. So wird es den Enzymatologen interessieren, dass es in der Natur ein Ferment gibt, welches Zellulose spaltet, den Biologen aber der Umstand, dass man dieses Ferment bei einem Tiere findet, dessen Nahrung hauptsächlich aus Zellstoff besteht.

Frühere Stadien unserer vergleichenden Wissenschaft wurden weitgehend durch das Problem beherrscht, ob man die bei Wirbeltieren, vor allem bei den Säugetieren bekannten Erscheinungen auch bei den s.g. niederen Tieren feststellen könne. Diese Problemstellung, die heute noch in der vergleichenden Muskel- und Nervenphysiologie nicht völlig verdrängt ist, ist prinzipiell falsch. Sie erzeugt ein Vorurteil zu Gunsten der Gleichsetzung und trübt den Blick für die Unterschiede, die zwischen den Lebenserscheinungen bei verschiedenen Tierkreisen bestehen. Diese Unterschiede machen die vergleichenden Wissenschaften reizvoll, und erst auf Grund der Kenntnis der Mannigfaltigkeit kann man zur Feststellung allgemeiner Lebensgesetze, also zu einer wirklichen allgemeinen Physiologie kommen. Wir können uns nicht darüber wundern, dass man sich bei der Erforschung der Physiologie niederer Tiere, ausgehend von dem genannten Vorurteil, früher oftmals getäuscht hat. So hat man jahrelang nicht am Vorkommen eines Pepsins bei Wirbellosen gezweifelt, nur auf Grund der Tatsache dass die Verdauungssäfte vieler Tiere, wie z.B. der Krebse, zur Eiweissverdauung in saurer Umgebung imstande sind, was übereinstimmt mit der verdauenden Wirkung des Magensaftes vieler Wirbeltiere. Andererseits hat aber dieser Gedankengang auch zum Auffinden vieler bedeutungsvollen Tatsachen Anlass gegeben. So hat COHNHEIM (1902) nach der Entdeckung des Erepins bei den Säugetieren ein übereinstimmendes Ferment bei den Cephalopoden gefunden. Die Aufgabe vergleichender Forschung ist daher die prinzipielle Gleichheit aller Lebenserscheinungen, neben der Mannigfaltigkeit ihrer Äusserungen stets vor Augen zu behalten.

Es ist klar, dass die Mehrzahl der Resultate älterer Forscher (vor 1910), wegen des ungeheuern Fortschrittes der Methodik, der seither stattgefunden hat, sehr veraltet ist, um so mehr als damals

die grosse Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für enzymatische Prozesse völlig unbekannt war.

Die Mehrzahl der neueren Forscher haben sich mit Verdauungsversuchen an Vertretern der Gruppe der Crustaceen beschäftigt, was übrigens nicht sehr erstaunlich ist, weil man sich bei diesen Tieren oft ziemlich leicht und ohne Opfer des Versuchstieres Verdauungssäfte verschaffen kann. (*Astacus*).

In den heutigen Untersuchungen ist das Hauptziel, zur genauen Charakterisierung der Enzymspezifität zu gelangen, wie wir sie für Wirbeltierenzyme durch die grundlegenden Arbeiten der WILLSTÄTTERSCHULE kennen.

Die beste Methode zur Charakterisierung eines Enzyms ist natürlich die, um mittels Adsorption und Elution das Ferment möglichst rein und einheitlich in Lösung zu erhalten, wie dies von J. J. MANSOUR-BEK (1932, 1934), bei ihrer Arbeit über die proteolytischen Enzyme von *Maja* und *Murex* geschehen ist. Sie bewies einwandfrei, dass im einheitlichen Magensaft dieser Wirbellosen die gleichen Teilenzyme vorkommen wie in den verschiedenen Säften der Wirbeltiere, und zwar, dass, abgesehen von einer pepsinartigen Proteinase auch alle anderen Teilenzyme vorhanden sind. Bei *Murex anguliferus* kam dabei noch die biologisch wichtige Frage, ob die Verdauungsdrüsen, welche an verschiedenen Stellen in den Darmkanal münden, auch physiologisch verschieden sind, wie das bei den Verdauungsdrüsen der Wirbeltiere der Fall ist. Was die Proteasen betrifft konnte jedoch kein Unterschied festgestellt werden; von einer Arbeitsteilung kann also nicht die Rede sein.

Bei *Maja* ist Frau MANSOUR-BEK imstande gewesen von der Proteinase aus dem Rohextrakt der Mitteldarmdrüse einen Aktivator abzutrennen, der sich durch Enterokinase ersetzen liess; der Rohextrakt selbst aber war nicht aktivierbar. Bei *Murex* konnte ein entsprechendes Verhalten noch nicht festgestellt werden.

Auch ohne Anwendung der Adsorptionstechnik kann man sich ein Urteil bilden über die Art und Spezifität der Enzyme und zwar durch Bestimmung der sogenannten Substratspezifität. Als Kriterium für das Vorhandensein bestimmter Teilenzyme gilt hierbei die Spaltbarkeit durch den Gesamtsaft oder den Gesamtextrakt von bestimmten Substraten, deren Verhalten gegenüber isolierten Teilenzymen aus Vertebratensäften genau bekannt ist. Tritt Spaltung auf, so ist die Wirkung des betreffenden

Teilenzyms nachgewiesen, allerdings nicht die Tatsache, dass ein isolierbares Enzym Träger dieser Wirkung ist. Bei Anwendung der genannten Methode beschränken wir uns auf die Beantwortung der Frage, ob bei der Proteolyse der betreffenden Tierart das Eiweiss in den gleichen Fraktionen gespalten wird wie bei anderen Arten. Die Frage, ob für jede Fraktion ein bestimmtes Enzym nötig ist bleibt unbeantwortet.

Auf Grund der Resultate von MANSOUR-BEK (1932) sind wir geneigt anzunehmen, dass auch für die Wirbellosen die Regel gilt, dass für jede Spaltungsfraktion ein Teilenzym vorhanden sein muss. Diese Annahme gewinnt bei Cephalopoden an Berechtigung durch den Nachweis, den wir erbringen werden, dass in den Sekreten verschiedener Drüsen verschiedene Teilenzyme vorkommen. Da die Adsorptionsmethode ausserordentlich umständlich ist, haben wir von ihrer Verwendung abgesehen.

Bis vor einigen Jahren schrieb man der Lage des pH-Optimums eines Enzyms grossen Wert für die Bestimmung seiner Spezifität zu. Heute benutzt man die Lage dieser Optima nur noch zur Charakterisierung in hohem Masse gereinigter Fermente; denn Begleitstoffe, die mit dem Enzym verbunden sind, oder in seiner Umgebung vorkommen, können einen grossen Einfluss auf die Lage des Optimums haben. Bekanntlich stimmen die im unge reinigten Zustande von einander abweichenden Optima für Magen- und Darm lipase nach Reinigung des Fermentes überein.

Weiterhin findet nach MANSOUR-BEK (1932) die optimale Wirkung der rohen Majaproteinase in saurer Umgebung statt und diejenige der gereinigten Proteinase bei alkalischer Reaktion. Von wesentlicher Bedeutung ist die Feststellung der pH-Optima für die Biologie der Verdauung, vorausgesetzt, dass man gründlich unterrichtet ist über die reelle Azidität des natürlichen Milieus der Enzyme. Von mehreren Forschern ist dieses bei verschiedenen Tieren festgestellt worden (SHINODA, 1928; KRÜGER und GRAETZ, 1927).

Was die Gruppe der *Cephalopoden* anbetrifft, so sind über moderne Probleme, ausser einigen Mitteilungen KRÜGERS (1929), fast keine Angaben in der Literatur zu finden. Ich habe mir also als Ziel gestellt, mittels der modernen Methodik Aufschlüsse zu bekommen über die spezifischen Eigenschaften der Verdauungsenzyme einiger Tintenfische; zugleich wurde die Möglichkeit einer Arbeitsteilung zwischen den verschiedenen Drüsen, welche in den Darmkanal münden, ins Auge gefasst, um so mehr, als

diese Drüsen, soweit bekannt, als wirkliche Verdauungsdrüsen, ohne resorbierende Funktion, aufzufassen sind.

ABSCHNITT I.

MATERIAL, METHODIK.

Für meine Arbeit kamen hauptsächlich Exemplare von *Sepia officinalis* in Betracht; im Ganzen wurden etwa 25 Tiere benutzt. Die Präparation geschah an der Zoologischen Station der Ned. Dierk. Vereniging, Den Helder, in den Monaten Mai-Juni 1932 und Juni 1933. Nur

ganz frische Tiere wurden gewählt, bei denen wenigstens die Chromatophoren noch in lebhafter Bewegung verkehrten. Nach Vernichtung der supraoesophagealen Ganglienmasse wurde das Tier ventral geöffnet und der grösste Teil des stark muskulösen Mantels fortgeschnitten. Nach Entfernung der Geschlechtsdrüsen, welche besonders bei den Weibchen sehr vo-

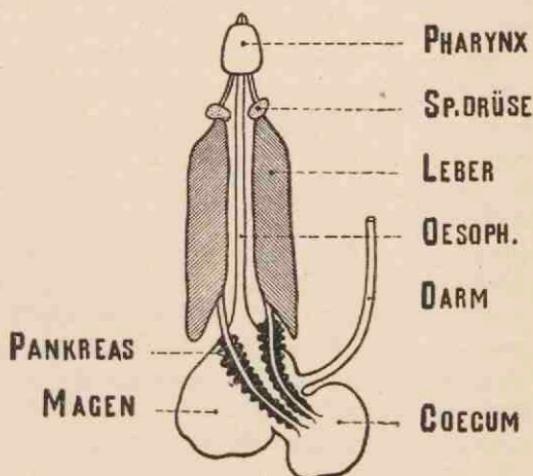


Abb. 1. *Sepia officinalis*.
Schema des Darmkanals.

luminös waren, konnte das schwammige, braun-orange Nierengewebe abpräpariert werden, womit zugleich der Darmkanal freigelegt worden war, und vom After her weggeschnitten werden konnte.

Der Darmkanal der zehnnarmigen Tintenfische (*Sepia*, *Loligo*) besteht aus einer U-förmigen Röhre, welche in der Mitte zu einem muskulösen Magen erweitert ist; dieser trägt einen dünnwandigen Blindsack (sogenanntes Coecum). In das Coecum münden die Ausführungsgänge der grossen Mitteldarmdrüse (Leber); die drüsigen Anhänge dieser Ausführungsgänge pflegt man Pankreas zu nennen. Die Speicheldrüsen sind kleine, weisse Drüsen, welche der Leber proximal anliegen und in den eigentümlichen

Pharynx münden. Die Leber ist eine grosse, kompakte, zuweilen 50 Gramm wiegende Drüse von hell- bis dunkelbrauner Farbe, während das Pankreas schön gelb bis orange gefärbt ist.

Bei einigen Tieren, besonders bei den im Juni 1933 gesammelten, war das Coecum prall gefüllt mit einer Flüssigkeit, dem sogenannten Magensaft, also dem durch beide Mitteldarmdrüsen abgesonderten Saft. Da diese Tiere schon mehrere Tage im Aquarium der Zool. Station gelebt hatten ohne gefüttert zu werden, können wir ruhig annehmen, dass der genannte Saft nicht mit Verdauungsresten einer vorigen Mahlzeit vermischt war, weil nach FALLOISE (1906) die Verdauung innerhalb 18 Stunden beendet ist.

Durch Einschneiden des Coecums wurde der Magensaft gesammelt (der pH elektrometrisch gemessen, siehe auch Seite 7) und nach Wägung mit 4 Gewichtsteilen Glycerin 87 % vermischt. Dieses Gemisch wurde bei niedriger Temperatur aufbewahrt und ist im Text als „Magensaft“ angedeutet. Die beiden Mitteldarmdrüsen wurden vorsichtig vom Darne abpräpariert, mit Filtrierpapier leicht getrocknet und gewogen. Das Pankreas wurde von der Leber getrennt.

Die Drüsen wurden alsdann in einem Mörser möglichst fein zerschnitten, mit Quarzsand zerrieben, mit dem Vierfachen ihres Gewichtes an konzentriertem Glycerin vermischt, öfters geschüttelt und schliesslich in der Kälte aufbewahrt. Nach mehreren Wochen Stehen wurden die Extrakte kolliert und filtriert; das Filtrat der Leber war eine klare, in auffallendem Lichte grün- und in durchfallendem Lichte braungefärbte Flüssigkeit; dasjenige des Pankreas war fast farblos.

Wenn im Magen Verdauungsreste angetroffen wurden, wurden diese in Alkohol 92 % fixiert und später einer makroskopischen Untersuchung unterworfen; es stellte sich heraus, dass sie zum grössten Teil aus Schuppen, Skelettstücken kleinerer Fische und Panzerreste von Crustaceen bestanden (*Crangon*, *Portunus*). Auffallend war, dass sich im Coecum niemals Verdauungsreste, wenigstens keine feste Bestandteile befanden, wie es auch von P. BERT (1867), E. BOURQUELOT (1882, 1885) und A. FALLOISE (1906) angegeben worden ist.

Von dem einzigen Exemplare von *Eledone cirrhosa*, das mir zur Verfügung stand, ist das ganze sogenannte „Hepatopankreas“ extrahiert worden, weil eine Trennung von Leber und Pankreas zu grossem Materialverlust geführt haben würde.

Schliesslich wurde auch Magensaft mehrerer frischer Exemplare von *Loligo vulgaris* gesammelt und mit Glycerin vermischt, wie für *Sepia* beschrieben worden ist.

Bemerkt sei noch, dass die in den Drüsen vorhandenen Enzyme nur in beschränktem Masse in Lösung gehen dürften und zwar besonders die Lyo-fraktion jedes Enzyms nach der Nomenklatur von WILLSTÄTTER und ROHDEWALD (1931, 1932). Genannte Autoren haben es wahrscheinlich gemacht, dass bei vielen Enzymen (Pepsin, Trypsin, Amylase, Maltase) von einem Lyo- und einem Desmoenzym gesprochen werden muss; die erste Fraktion ist ohne weiteres wasser- und glyzerinlöslich, während die zweite Fraktion, welche sehr fest an das Zellmaterial gebunden ist, erst nach bestimmten Prozessen, wie Autolyse, zum Teil löslich wird.

Wenn man also Enzymkonzentrationen verschiedener Extrakte mit einander vergleichen will, müssen diese Tatsachen berücksichtigt werden (vgl. auch MANSOUR-BEK, 1934).

Was die benutzten Methoden anbetrifft, kann auf die einzelnen Abschnitte verwiesen werden.

Der pH des Magensaftes.

Der Magensaft der genannten hungernden *Sepias* wurde zur Bestimmung des pH über Nacht in der Kälte unter Paraffinöl aufbewahrt und am andern Morgen der pH gemessen (elektrometrisch mit Wasserstoffelektrode gegen 1 N. Kalomelektrode).

Tier	pH des Magensaftes
<i>Sepia</i> ♂	pH 5.14
<i>Sepia</i> ♂	pH 5.83
<i>Sepia</i> ♀	pH 5.42

Der Magensaft weist also deutlich saure Reaktion auf (pH i.M. 5.4). Von allen andern Tieren wurde der Mageninhalt kolorimetrisch auf den pH geprüft und immer schwach sauer (im Hunger) oder neutral (in der Verdauung), aber niemals alkalisch gefunden.

In der Literatur findet man saure Reaktion erwähnt von SELLIER (1907), HENRY (1903), JOUSSET DE BELLESME (1879), FREDERICQ (1878) und FALLOISE (1906), während nur KRUKENBERG (1882) alkalische Reaktion zu beobachten gemeint hat.

Eigenschaften des Magensaftes.

Der reine Magensaft ist eine klare Flüssigkeit, gelblich braun gefärbt im Gegensatz zur dunklen Farbe der Säfte vieler Wirbellosen (*Astacus*). Er ist sehr eiweissreich, bei Hinzufügung überschüssigen Alkohols bildet sich ein weisser Niederschlag und Unterschichten mit Salpetersäure ruft einen deutlichen Hellerschen Ring hervor. Folgende Farbreaktionen sind leicht zu erhalten: Reaktion von ADAMKIEWICZ, Biuretreaktion, Reaktion von MOLISCH.

ABSCHNITT II.

DIE SPEICHELDRÜSEN.

Beim Nachschlagen der Literatur über die Funktion der Speicheldrüsen, von denen *Sepia* im Gegensatz zu den Octopoden nur zwei besitzt, stellt sich heraus, dass besonders die drei folgenden Funktionen ins Auge gefasst worden sind:

- A. Die Schleimsekretion.
- B. Der Speichel als Gift.
- C. Die Absonderung von Enzymen.

A. Die Schleimsekretion.

Nach KRUKENBERG (1882) soll die Absonderung von Schleim die einzige Funktion dieser Drüsen darstellen und er will den Namen „Speicheldrüsen“ ersetzen durch „Pharynxschleimdrüsen“. Auch GRIFFITHS (1888) erwähnt, dass er mit Essigsäure und „several wellknown tests“ die Anwesenheit eines Muzins bewiesen hat, während BOURQUELOT (1882) die sehr viskösen Eigenschaften eines Wasserextraktes der Drüsen betont, obgleich es ihm nicht gelang mit Essigsäure einen flockigen Niederschlag zu bekommen.

In diesem Zusammenhang muss ich bemerken, dass meine Extrakte, sowohl die Glycerin- als die Wasserextrakte äusserst fadenziehend waren und gar nicht filtriert werden konnten. Ich meine daraus schliessen zu dürfen, dass die Absonderung von Schleim wirklich eine Funktion der genannten Drüsen sein dürfte.

Für die Octopoden findet man von BOURQUELOT (1882) erwähnt, dass Extrakte der hinteren Drüsen sehr viskös sind, nicht diejenige des vorderen Paares.

Nach HENZES (1906) Meinung soll das Gift dahingegen recht wohl löslich in Alkohol und kochbeständig sein.

BAGLIONI (1909) erwähnt, dass das isolierte Gift kräftig auf Crustaceen und Frösche wirkt, nicht aber auf Fische.

Nach KRAUSE (1895, 1897) ist der reine Speichel von *Octopus macropus* sehr wirksam auf Crustaceen, Fische und vielleicht auch auf Kaninchen.

Folgende Tabelle gibt eine Zusammenfassung aller Angaben:

Autoren	<i>Sepia</i>	<i>Loligo</i>	Vordere Drüsen <i>Eledone</i>	Hintere Drüsen	Vordere Drüsen <i>vulgaris</i>	Hintere Drüsen <i>Octopus</i>	Vordere Drüsen <i>macropus</i>	Hintere Drüsen <i>Octopus</i>	Bemerkungen
Briot (1905)	+ ¹⁾	+		+					Wasserextrakte (Carcinus)
LIVON und Briot (1906)	+	+	—	+	—	+			Wasserextrakte (Carcinus, Maja, Homarus)
KRAUSE (1895, 1897) .								+	Speichel (Car- cinus, Rana, Lepus)
HENZE (1906)						+			Isoliertes Gift (Carcinus)
BAGLIONI (1909) . . .						+			Isoliertes Gift (Rana, Car- cinus, Fische)

Eigene Untersuchungen.

Zum Studium der Giftwirkung wurden Seewasserextrakte der Speicheldrüsen von *Sepia* dargestellt (Mai 1933).

Carcinus maenas (80 Gr.). 0.2 cc Extrakt, in das Abdomen injiziert, verursacht fast unmittelbar klonische Krämpfe der Beine und nach 30 Sekunden war das Tier völlig gelähmt.

Bei *Portunus holsatus* wurde dieser Zustand schon nach 10 Sekunden erreicht.

Crangon vulgaris ist nach Einspritzung von 0.05 cc Extrakt sofort wehrlos.

Agonis catafractis. 0.5 cc subcutan injiziert; das Tier ist zuerst augenscheinlich ganz normal, nach einigen Minuten aber legt es

¹⁾ + = Gift. — = kein Gift.

sich auf den Boden des Aquariums, die Atembewegungen werden unregelmässig und haben nach 5 Minuten ganz aufgehört. Das Tier stellt sich nicht wider her.

Das Gift scheint also, ausser den Crustaceen auch einige Fische zu beeinflussen. Blankoversuche mit Meerwasser und Magensaft hatten keinen Einfluss.

C. Die Absonderung von Enzymen.

Der Gehalt der Speicheldrüsen an Verdauungsenzymen könnte von grosser Bedeutung sein für die Zerkleinerung der Beute auf dem Wege der extraintestinalen Verdauung; bei *Octopus* hat LO BIANCO eine solche Verdauung ausserhalb des Körpers angenommen, um die Tatsache zu erklären, dass eine gefangene und getötete Krabbe einige Zeit nach ihrer Tötung dem Tintenfisch abgenommen, äusserlich wenig verletzt erschien, während der Carapax bis in die Beine leergesogen war. Für Decapoda ist etwas entsprechendes nicht bekannt.

Mehrere Forscher haben Enzyme in den Speicheldrüsen aufzuweisen versucht mit sehr verschiedenen Resultaten. Nach P. BERT (1867) soll das saure Abscheidungsprodukt der Speicheldrüsen erst im Magen, nach Beimischung des Magensaftes, seine verdauende Wirkung entfalten; er beweist aber keineswegs, dass der Speichel wirklich Fermente enthält.

KRUKENBERG (1882) leugnet das Vorhandensein von Enzymen in den Speicheldrüsen von *Sepia officinalis* und *Sepiola rondeletii*. BOURQUELOT (1882) liess Wasserextrakte der Drüsen auf rohe Kartoffelstärke, welche sorgfältig von Zucker befreit worden war, einwirken. Es fand keine Verdauung statt, ebensowenig von Stärke, welche mit heissem Wasser (76° C.) hydratiert worden war.

Weiter konnten auch Saccharose, Salizin und Inulin der Einwirkung des Extraktes widerstehen.

Über das Vorhandensein von Enzymen in den hinteren Speicheldrüsen der Octopoden findet man in der Literatur sehr widersprechende Angaben, schon was die Reaktion des Speichels anbetrifft. Während nach KRAUSE (1897) der Speichel bei *Octopus macropus* deutlich sauer reagieren soll, gibt I. HYDE (1897) an, bei demselben Tiere eine neutrale oder alkalische Reaktion gefunden zu haben.

Der Speichel von *Octopus macropus* soll nach KRAUSE (1897) eine Fibrinflocke lösen können, nicht aber Stärke.

Nach LEON FREDERICQ (1878) ist ein Extrakt der hintern

Speicheldrüsen von *Octopus vulgaris* unwirksam auf Fibrin und Stärke, während JOUSSET DE BELLESME (1879) dem Drüsenextrakt das Vermögen Bindegewebe zu lösen zuschreibt und meint, dass er sich auf diese Wirkung beschränkt.

BOURQUELOT (1882) hat diesen Angaben widersprochen; er wies darauf hin, dass angesäuertes Wasser in 24 Stunden dieselben histologischen Veränderungen an Krabbenmuskeln hervorruft, wie sie von JOUSSET DE BELLESME (1879) beschrieben worden waren.

Nach BOURQUELOT (1885) haben die Extrakte keinen Einfluss auf Eiweissstoffe und Kohlehydrate.

VICTOR HENRY (1903) gibt an ein wenig Amylase in der Speicheldrüse von *Octopus vulgaris* gefunden zu haben.

Nach FALLOISE (1905-1906) sind die Extrakte der hinteren Speicheldrüsen von *Octopus* und *Eledone* schwach proteolytisch wirksam (Fibrin, Gelatine), während KRUKENBERG (1882) das Vorhandensein von Enzymen bei *Eledone* leugnet.

Nach P. KRÜGER (1929) soll Presssaft der Speicheldrüsen von Octopoden Pepton spalten.

Die vorderen Speicheldrüsen enthalten, soweit sie untersucht wurden (BRIOT, BOURQUELOT) keine Fermente (*Octopus*, *Eledone*).

HENZE (1906) ist der Meinung, dass die Speicheldrüsen auch noch eine wichtige exkretorische Funktion haben, weil es ihm gelang im Speichel erhebliche Mengen Stickstoff nachzuweisen (Taurin); dass dieser Stickstoff Exkreten angehört stützt HENZE durch die Untersuchungen von FÜRTHS, aus denen hervorgeht, dass der eigentliche Harn arm an Stickstoff ist. Die Blutversorgung der Drüsen soll diese exkretive Funktion begünstigen.

Eigene Untersuchungen:

Zur Bestimmung einer eventuellen Proteinase wurde die Einwirkung eines Glycerinextraktes der Speicheldrüsen von *Sepia* auf folgende Substrate geprüft:

1. Gelatine; 2. Casein; 3. Pepton.

1. Gelatine.

3 Grm Gelatinepulver wurden mit 97 Grm dest. Wasser auf 30° C. erwärmt und bei dieser Temperatur aufbewahrt.

Verdauungsgemisch: 6 cc Phosphatpuffer (nach SÖRENSEN) 0.2 Mol., 3 ccm Gelatinelösung 3%, 1 ccm Glycerinextrakt. Temperatur 30° C. pH 6.75 (elektrometrisch gemessen). Quantitative Bestimmung der Aminosäuren nach VAN SLYKE (1923); pro Titration 2 ccm.

Blankbestimmung: 0.55 ccm Aminostickstoff.

Nach 60 Minuten: 0.56 ccm „

Nach 2 Stunden: 0.58 ccm „

Kein Aciditätszuwachs.

2. Casein.

6 Grm Casein (HAMMARSTEN) wurden mit 100 ccm Wasser geschüttelt, 5 ccm NaOH N/1 hinzugefügt und nochmals 100 ccm Wasser. Die Flüssigkeit wurde langsam auf 90° C. erwärmt zur vollständigen Lösung des Caseins. Nach Abkühlen wurde die Lösung mit etwas Thymol versehen und bei niedriger Temperatur aufbewahrt.

Verdauungsgemisch: 6 ccm Phosphatpuffer 0.2 Mol., 3 ccm Caseinlösung 3%, 1 ccm Drüsenextrakt, pH 6.56 (elektrometrisch gemessen). Temp. 30° C. Bestimmung im Mikro-VAN SLYKE-Apparat, pro Titration 2 ccm.

Blankowert: 0.464 m.Grm N₂.

Nach 2 Stunden: 0.469 m.Grm N₂.

Kein Aciditätszuwachs.

3. Pepton.

2.5 Grm Pepton (ex alb.) wurden mit wenig Wasser zerrieben, mit Wasser auf 50 ccm aufgefüllt, gekocht und filtriert bis die 5 prozentige Lösung vollkommen klar war.

Verdauungsgemisch: 5 ccm Phosphatpuffer 0.2 Mol., 5 ccm Peptonlösung, 1 ccm Drüsenextrakt, pH 6.17 (elektrometrisch gemessen), Temp. 38° C. Titration der COOH-Gruppen nach WILLSTÄTTER und WALDSCHMIDT-LEITZ (1924), pro Titration 2 ccm.

Blankobestimmung: 1.86 ccm alk. KOH 1/10 N.

Nach 134 Minuten: 1.87 ccm „ „ 1/10 N.

Nach 18 Stunden: 1.87 ccm „ „ 1/10 N.

Keine Aciditätszunahme.

Idem bei pH 7.78.

Blankowert: 1.06 ccm alk. KOH n/10.

Nach 100 Minuten: 1.05 ccm „ „ n/10.

Nach 20 Stunden: 1.07 ccm „ „ n/10.

Kein Aciditätszuwachs.

Also, weder Gelatine, noch Casein, noch Pepton werden vom Extrakte der Speicheldrüsen gespalten; eine Proteinasewirkung fehlt. Die Anwesenheit von Peptidasen schien sehr unwahrscheinlich; erstens spricht die Tatsache, dass Pepton nicht gespalten wird gegen das Vorhandensein einer Peptidase, zweitens ist es unwahrscheinlich, dass die am meisten oral mündenden Drüsen nur Enzyme enthielten für die niedrigsten Fraktionen der Eiweissverdauung.

Die Wirkung der Extrakte ist auf folgende Peptide studiert

worden: 1. Chloracetyl-l-tyrosin; 2. Leucyldiglycin; 3. Glycylglycin.

1. Chloracetyl-l-tyrosin.

100 m.Grm dieses Substrates wurden in 10 ccm dest. Wasser gelöst.

Verdauungsgemisch: 1 ccm Puffer (Glycocol-NaOH 0.2 Mol.), 0.5 ccm Chloracetyl-l-tyrosinlösung 1%, 0.3 ccm Drüsenextrakt, pH 6.28, Temp. 38° C., alkoholische Mikrotitration nach W. GRASSMANN (1929), pro Titration 0.4 ccm.

Blanko gebunden: 4.58 ccm alk. KOH n/100.

Nach 6 Stunden: 4.59 ccm „ „ n/100.

Keine Aciditätszunahme.

Idem bei pH 7.82.

Blankowert: 2.76 ccm alk. KOH n/100.

Nach 3 Stunden: 2.78 ccm „ „ n/100.

Nach 6 Stunden: 2.77 ccm „ „ n/100.

Keine Aciditätszunahme; Chloracetyl-l-tyrosin wird nicht vom Speicheldrüsenextrakt gespalten, eine Carboxypolypeptidasewirkung ist nicht vorhanden.

2. Leucyldiglycin.

200 m.Grm Leucyldiglycin wurden in 10 ccm Wasser gelöst.

Verdauungsgemisch: 1 ccm Puffer (K. biphtalat-NaOH) 0.2 Mol., 0.5 ccm Leucyldiglycinlösung 2%, 0.3 ccm Drüsenextrakt, pH 6.22 (elektrometrisch gemessen), Temp. 38° C., Mikrotitration nach W. GRASSMANN, pro Titration 0.4 ccm.

Blankowert: 4.22 ccm alk. KOH n/100.

Nach 2 Stunden: 4.25 ccm „ „ n/100.

Nach 5 Stunden: 4.24 ccm „ „ n/100.

Keine Aciditätszunahme.

Idem bei pH 7.86 (Glycocol-NaOH 0.2 Mol.).

Blankobestimmung: 2.88 ccm alk. KOH n/100.

Nach 4 Stunden: 2.89 ccm „ „ n/100.

Leucyldiglycin wird also nicht gespalten, auch eine Aminopolypeptidasewirkung fehlt.

3. Glycylglycin.

200 m.Grm wurden in 10 ccm Wasser gelöst.

Verdauungsgemisch: 1 ccm Puffer (K. bipht.-NaOH 0.2 Mol.), 0.5 ccm Peptidlösung, 0.3 ccm Extrakt, pH 6.02, Temp. 37.8° C., Mikrobestimmung von Aminosäuren nach W. GRASSMANN, pro Titration 0.4 ccm.

Blanko gebunden: 4.41 ccm alk. KOH n/100.

Nach 4 Stunden: 4.43 ccm „ „ n/100.

Nach 6 Stunden: 4.44 ccm „ „ n/100.

Kein Aciditätszuwachs.

Idem bei pH 7.82 (Glycocoll-NaOH).
 Blankowert: 3.16 ccm alk. KOH n/100.
 Nach 4 Stunden: 3.15 ccm „ „ n/100.
 Kein Aciditätszuwachs.

Auch Glycylglycin wird nicht gespalten; eine Dipeptidase-wirkung ist nicht vorhanden.

Weiter wurde der Extrakt auf das Vorhandensein einer Amy-lase geprüft; die folgenden zwei Substrate wurden gewählt: 1. lösliche Stärke (KAHLBAUM); 2. Glycogen puriss, (MERCCK). Der ev. gebildete Zucker wurde quantitativ nach der Methode von BERTRAND-SCHOORL (1915-1916) bestimmt, und zwar nach der sogenannten Resttitration.

1. Lösliche Stärke.

Verdauungsgemisch: 10 ccm Stärkelösung 1%, 5 ccm Puffer (K. bipt.-NaOH 0.2 Mol.), 1 ccm Speicheldrüsenextrakt, pH 6.14, Temp. 38° C., pro Titration 10 ccm.

Blanko hinzugefügt: 13.16 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ n/10.
 Nach 3 Stunden: 13.15 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ n/10.
 Differenz: 0.01 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ n/10.

Keine Zuckerbildung.

Idem bei pH 8.2 (Glycocoll-NaOH).
 Blankowert: 13.18 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ n/10.
 Nach 4 Stunden: 13.18 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ n/10.
 Differenz: 0.00 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ n/10.

Amylum solubile wird also nicht vom Speicheldrüsenextrakt verdaut.

2. Glycogen.

10 ccm Glycogenlösung 1%, 5 ccm Phosphatpuffer 0.2 Mol., 1 ccm Extrakt, pH 6.71, Temp. 37.9 C., pro Titration 10 ccm.

Blankowert: 13.51 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ n/10.
 Nach 8 Stunden: 13.50 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ n/10.
 Differenz: 0.01 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ n/10.

Idem bei pH 8.26 (Glycocoll-NaOH).
 Blankowert: 13.47 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ n/10.
 Nach 6 Stunden: 13.48 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ n/10.
 Differenz: -0.01 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ n/10.

Auch Glycogen wird nicht verzuckert; offenbar fehlt eine Amylase.

Schliesslich wurde die Wirkung des Speicheldrüsenextraktes auf Tributyrin studiert, nach der stalagmometrischen Methode von MICHAELIS und RONA (1911).

Verdauungsgemisch: 25 ccm gesättigte Tributyrinlösung (siehe auch Abschnitt III, A), 2 ccm Phosphatpuffer 0.2 Mol., 1 ccm Drüsenextrakt, pH 6.32, Temp. 20° C.

Tropfenzahl beim Anfang des Versuches: 141.
 Nach 60 Minuten: 141.
 Nach 4 Stunden: 140.
 Nach 10 Stunden: 140.

Idem bei pH 8.21.

Tropfenzahl am Anfang: 142.
 Nach 5 Stunden: 142.
 Nach 8 Stunden: 142.

Der Speicheldrüsenextrakt ist also nicht imstande die Tropfenzahl einer Tributyrinlösung zu ändern, woraus ich auf das Fehlen einer Lipase schliesse.

Zusammenfassung.

Die Speicheldrüsen von *Sepia officinalis* enthalten keine Verdauungsenzyme; sie sind als Schleim- und Giftdrüsen aufzufassen; von einer Vorverdauung ausserhalb des Tieres durch Speichel kann also nicht die Rede sein.

ABSCHNITT III.

DIE MITTELDARMDRÜSEN UND DER MAGENSAFT.

A. Lipasen.

In der älteren Literatur findet man nur von BOURQUELOT (1885) erwähnt, dass Wasserextrakte der Leber von *Sepia*, süßes Mandelöl emulsionieren, und nach 24 Stunden war eine schwach saure Reaktion eingetreten, doch erhielt man die gleiche saure Reaktion wenn das Fett mit Wasser in Berührung gewesen war.

In letzter Zeit ist von KRÜGER (1929) gezeigt worden, dass nach Einwirkung frischen Magensaftes einer hungernden *Sepia* auf Rizinusöl keine Fettsäuren gebildet werden, während einfache Ester wie Methylbutyrat und Phenylazetat gut hydrolysiert wurden. Ein Glycerinextrakt eines Trockenpulvers der Leber spaltet aber Rizinusöl. Dieser Widerspruch könnte vielleicht erklärt werden durch die Annahme, dass es hemmende Begleitstoffe gibt, welche bei der Behandlung der Leber mit Azeton beseitigt worden sind. Die Bestimmung eines pH-Optimums ergab einen Wert zwischen pH 5.6 und pH 6.2 (Azetatpuffer).

JOUSSET DE BELLESME (1879) erwähnt, dass Olivenöl von einem Leberextrakt von *Octopus vulgaris* nicht emulgiert wurde und auch nach mehreren Tagen liess sich keine saure Reaktion nachweisen.

FALLOISE (1905–1906), der mit Fistelsäften von *Octopus vulgaris* und *Eledone moschata* arbeitete, fand diese wirkungslos Olivenöl gegenüber; dagegen wurde Milch, welche mit blauem Lackmus gefärbt worden war, in 7 Stunden gerötet.

KRÜGER (1929) fand bei *Octopus* und *Eledone* dasselbe wie bei *Sepia*. Nach BOURQUELOT (1885) soll Leberextrakt von *Octopus*, süßes Mandelöl emulgieren; das Auftreten von Fettsäuren konnte aber nicht bewiesen werden.

Eigene Untersuchungen.

1. Spaltung von Rizinusöl. Alkalimetrische Bestimmung von Fettsäuren nach WILLSTÄTTER und WALDSCHMIDT-LEITZ (1924).

a. Leberextrakt.

In eine Flasche von 10 ccm Inhalt kamen 2 ccm Phosphatpuffer 0.2 Mol., 1 ccm Rizinusöl und 0.5 ccm Leberextrakt. Die Flasche wurde während 3 Minuten mit der Hand geschüttelt und in ein Wasserbad bei 38° C. gestellt. Zur Beendigung der Hydrolyse wurde die Flüssigkeit mit 25 ccm Alkohol 96% in einen Kolben übergespült und nach Hinzufügung von 1 ccm Phenolphthalein 1/100 titriert mit alkoholische n/10 KOH.

Bei pH 5.70. Temp. 38° C.

Blanko Titer:	3.60 ccm alk. KOH	n/10.
Nach 4 Stunden:	3.62 ccm „ „	n/10.
Zunahme:	0.02 ccm „ „	n/10.

Bei pH 7.14. Temp. 38° C.

Blankowert:	1.60 ccm alk. KOH	n/10.
Nach 4 Stunden:	1.60 ccm „ „	n/10.
Zunahme:	0.00 ccm „ „	n/10.

Rizinusöl wird also vom Leberextrakt nicht gespalten.

b. Pankreasextrakt.

Die gleichen Versuchsbedingungen wie oben beschrieben worden sind.

Bei pH 5.70. Temp. 38° C.

Blanko Titer:	3.30 ccm alk. KOH	n/10.
Nach 2 Stunden:	3.45 ccm „ „	n/10.
Zuwachs:	0.15 ccm „ „	n/10.

Bei pH 7.14. Temp. 38° C.

Blanko Titer: 1.30 ccm alk. KOH n/10.

Nach 2 Stunden: 1.38 ccm „ „ n/10.

Zuwachs: 0.08 ccm „ „ n/10.

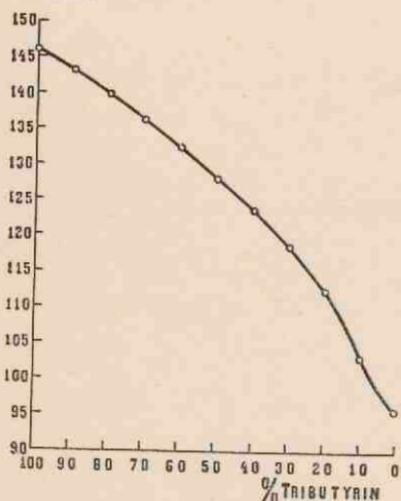
Aus obenstehenden Tabellen geht hervor, dass nur der Pancreasextrakt in beschränktem Masse zur Fettsäurebildung aus Rizinusöl imstande ist. (Genauigkeit der Methode 0.02 ccm alk. KOH n/10).

2. Spaltung von Tributyrin.

Die Spaltung des Tributyrins wurde verfolgt mittels der stalagmometrischen Methode von MICHAELIS und RONA (1911). Zuerst wurde für das benutzte Stalagmometer eine Standardtributyriinkurve aufgestellt:

8 Tropfen Tributyrin wurden mit 400 ccm Wasser während einer Stunde auf der Schüttelmaschine mit mässiger Geschwindigkeit geschüttelt. Nach 15 Minuten Stehens wurde die Flüssigkeit filtriert; die ersten und letzten 50 ccm wurden weggeworfen. Von der erhaltenen Lösung wurden Verdünnungen hergestellt von resp. 90%, 80%, u.s.w. ... 0% Tributyrin. Von diesen wurde die Tropfenzahl mit einem Stalagmometer bestimmt und die Beziehung zwischen Konzentration und Tropfenzahl grafisch dargestellt:

TROPFENZAHL



% Tributyrin	Tropfenzahl
100	146
90	143
80	140
70	136
60	132
50	128
40	124
30	118
20	112
10	102
0	96

Abb. 2. Tributyrinkonzentration und Tropfenzahl. Temp. 20° C.

a. Leberextrakt.

Verdauungsgemisch: 25 ccm gesättigte Tributyrinlösung, 1 ccm Phosphatpuffer 0.2 Mol., 2 ccm Leberextrakt, pH 6.32, Temp. 20° C.

Zeit (Min.)	% gespalten
30	26
60	51
90	69
120	78

b. Pankreasextrakt.

Zeit (Min.)	% gespalten
30	21
60	41
90	59

c. Magensaft.

Zeit (Min.)	% gespalten
30	19
60	37
90	54

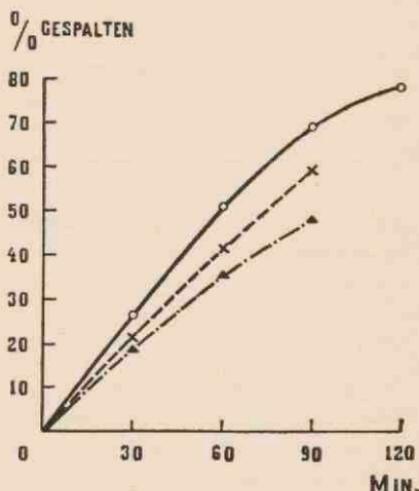


Abb. 3. Spaltung von Tributyrin durch Glycerinextrakt der Leber (—o—o—) des Pankreas (—x—x—) und durch Magensaft (—▲—▲—) von *Sepia officinalis*. Temp. 20° C.

Aus den Kurven geht deutlich hervor, dass Tributyrin von den erwähnten Extrakten und vom Magensaft gut zerlegt wird und zwar ist die Spaltung bis 50 % der Zeit proportional, bei den benutzten Fermentkonzentrationen.

pH Optima der Tributyrinspaltung.

a. Leberextrakt.

Verdauungsgemisch: 25 ccm Tributyrinlösung 100%, 1 ccm Phosphatpuffer 0.2 Mol., 1 ccm Leberextrakt, Temp. 20° C. Zeit 60 Minuten.

pH (elektrometrisch gemessen)	Verdauung in %
5.58	11.5
5.76	20
6.02	46.5
6.35	25
6.60	22.5
6.86	20
6.91	17
7.05	13

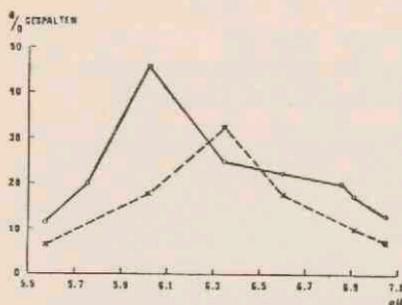


Abb. 4. Tributyrinspaltung durch Leberauszug (—o—o—) und Pankreasauszug (—×—×—) von *Sepia*, und Wasserstoffzahl.

b. Pankreasextrakt.

Versuchsbedingungen wie oben.
Temp. 18° C.

pH (elektrometrisch gemessen)	% gespalten
5.58	6.5
6.02	18
6.35	32.5
6.60	17.5
6.91	10
7.05	7

Für den Leberextrakt liegt das Optimum bei pH 6.02, für den Pankreasextrakt bei pH 6.35. Diese Werte stimmen etwa mit den von anderen Autoren bei anderen Wirbellosen gefundenen überein: *Helix* pH 6.5 (KUNTARA), *Astacus* pH 5.7 (KRÜGER), *Limax* pH 5.6–5.9 (GRAETZ).

Weiter wurde versucht die Sepialipase mit $MgCl_2$ zu aktivieren, da ja dieser Stoff ein bekannter Aktivator der Wirbeltierlipase ist.

a. Leberextrakt.

I.

25 ccm Tributyrinlösung 100%
1 ccm Phosphatpuffer 0.2 Mol.
1 ccm Leberextrakt
0.5 ccm Wasser
Spaltung in einer Stunde: 19%

Keine Aktivierung.

II.

Wie unter I, aber statt
0.5 ccm Wassers,
0.5 ccm $MgCl_2$ 10%

Spaltung in einer Stunde 20%

b. Pankreasextrakt.

I.

Wie oben
Spaltung in einer Stunde 18%

Keine Aktivierung.

II.

Wie oben
Spaltung in einer Stunde: 18%

Zusammenfassung:

Glycerinextrakt der Leber von *Sepia* verdaut kein Rizinusöl, während die Spaltung des Tributyrins glatt verläuft. Das pH-

Optimum liegt bei pH 6.02. Keine Aktivierung mit $MgCl_2$ (vgl. auch KRIJGSMAN, 1928). Pankreasauszug ist zur Verdauung von Rizinusöl imstande, die Fettsäurebildung ist bei pH 5.70 grösser als bei pH 7.14. Tributyrin wird in ungefähr demselben Masse zerlegt wie vom Leberextrakt. Das pH-Optimum liegt bei pH 6.35. Der Auszug lässt sich nicht mit $MgCl_2$ aktivieren.

B. Proteasen.

Wenn man die ältere Literatur über die Eiweissverdauung bei *Sepia* nachschlägt, so findet man, von den unbestimmten Angaben P. BERTS (1867) abgesehen, allgemein die Meinung vertreten, dass ein eiweisslösendes Enzym vorhanden sei. So soll nach KRUKENBERG (1882) der Magensaft von *Sepia* und von anderen Cephalopoden braungelb gefärbt sein; er soll eine alkalische Reaktion aufweisen und Fibrin bei dieser Reaktion rasch lösen. Frisch dargestellte Wasserextrakte der Leber erwiesen sich als nicht proteolytisch wirksam, wohl aber Glycerinextrakte, welche sechs Wochen alt waren. Die Lösung des Fibrins geschah am schnellsten in 1 %-iger Sodalösung, während aber auch in 0.1 %-iger Salzsäure die Verdauung nicht versagte, woraus KRUKENBERG auf das Vorhandensein eines peptischen neben dem eines tryptischen Enzyms meinte schliessen zu dürfen.

Das Pankreas soll nach KRUKENBERG keine Enzyme, dagegen ausschliesslich Schleim absondern.

VIGELIUS (1883) schliesst an seine histologischen Untersuchungen einige Verdauungsversuche mit alkoholischem Extrakt der Leber an und findet auch Fibrinverdauung sowohl bei saurer als bei alkalischer Reaktion.

Nach VICTOR HENRY (1903) enthalten Leber und Pankreas eine Protease (Fibrin, Gelatine), während die einzelnen Extrakte ebenso wirksam sind wie ein Gemisch derselben. Ein Extrakt des Coecums, welches selbst keine Protease enthielt, erwies sich zur Beschleunigung der Pankreaswirkung, nicht aber der Leberwirkung imstande.

J. SELLIER (1907) fand bei 50 Sepien dass der Magensaft Lackmus gegenüber sauer reagiert. Die verdauende Kraft des Magensaftes war im Hunger dieselbe, wie während der Mahlzeit. Der Saft soll koaguliertes Ovalbumin nicht verdauen, wohl aber Gelatine und Casein, und zwar am besten in saurer Umgebung (0.1 % HCl).

Später ist von KRÜGER (1929) gezeigt worden, dass Magensaft hungernder Sepien jedenfalls eine Proteinase und eine Dipeptidase enthält (Verdauung von Pepton und Alanyl-glycin). Mit Glyzerinauszügen von Azetontrockenpulver von Sepialebern wurde ein pH-Optimum bestimmt und dieses bei alkalischer Reaktion gefunden, ein Verhalten welches KRÜGER der Mitwirkung von Poly- und Dipeptidasen zuschreibt. Übrigens macht die kurze Darstellung seiner Versuchsbedingungen eine genaue Beurteilung der Resultate sehr schwer.

Für die Octopoden erwähnt LEON FREDERICQ (1878), dass saure wie alkalische Extrakte (HCl und Na_2CO_3) von Trockenpulver der Leber von *Octopus vulgaris* imstande sind Fibrin zu lösen. Seine Schlussfolgerungen sind: „Il y a donc là un ferment s'adressant aux albuminoides et qui est ni la pepsine ni la trypsine . . .“. Augenscheinlich ist hier ein Extrakt des „Hepato-pankreas“ benutzt worden.

JOUSSET DE BELLESME (1879) hat beobachtet, dass Muskelstücke von *Carcinus* sich lösten im Saft, welcher aus den Leberausführungsgängen gesammelt wurde; die Reaktion des Saftes war sauer.

Auch KRUKENBERG (1882) erwähnt für *Eledone* eine Fibrinverdauung sowohl bei saurer als bei alkalischer Reaktion (HCl und Na_2CO_3) und schliesst auf das Vorhandensein eines peptischen und eines tryptischen Enzyms.

E. BOURQUELOT (1885) beschäftigt sich mit der Frage, in wie weit man es bei den Cephalopoden mit Pepsin oder Trypsin zu tun hat und er schliesst, ähnlich wie KRUKENBERG, dass beide Fermente nebeneinander vorhanden sind; so spricht Verdauung des Fibrins in alkalischer oder neutraler Umgebung ohne vorhergehende Quellung desselben für das Vorhandensein von Trypsin, während das Enzym auch nach Ansäuerung der Leberextrakte (*Octopus*) Eiweiss verdaut; hingegen bleibt Stärke nun ungespalten: das Vorhandensein eines Pepsins sei bewiesen.

O. COHNHEIM (1902) fand in Leberextrakten der Octopoden ein Ferment, welches Pepton mässig schnell, natives Eiweiss sehr langsam verdaute (Erepsin) und hat darauf hingewiesen, dass Eiweiss schliesslich als Aminosäuren und nicht als Pepton vom Darne resorbiert wird.

Nach VICTOR HENRY (1903) soll der Saft aus den Leberausführungsgängen von *Octopus vulgaris* gekochtes Ovalbumin, Fibrin und Gelatine verdauen, wohingegen ein Coecumwand-

extrakt weder Enzyme enthielt noch die Wirkung des Drüsen-saftes zu beeinflussen imstande war.

A. FALLOISE (1905-1906) legte bei *Octopus* und *Eledone* Fisteln an und liess die Tiere wieder frei herumschwimmen. Er konnte zeigen, dass die Sekretion der Mitteldarmdrüsen zwar kontinuierlich ist, aber reichlicher während der Verdauung als im Hunger. In sämtlichen Fällen (30 Exemplare von *Octopus* und *Eledone*) reagierte der Saft, Lackmus gegenüber, sauer.

Gekochtes Hühnereiweiss wurde vom Fistelsafte nicht verdaut, wohl dahingegen Gelatine (METT'sche Methode). FALLOISE ist der erste Forscher, der darauf hinweist, dass es bei diesen Versuchen notwendig ist ein Antisepticum zu benutzen (NaF). Der Saft konnte nicht von Extrakten verschiedener Darmteile aktiviert werden.

Weiter wurden Extrakte der Leber und des Pankreas einzeln dargestellt, bei denen sich grosse Unterschiede im Verhalten ergaben. So verhielt sich der Leberextrakt vollkommen gleich dem ganzen Saft, während der Pankreasextrakt nur Amylase zu enthalten schien, es wurden wenigstens weder Fibrin, noch Gelatine oder gar Pepton merklich gespalten. Die Extrakte verschiedener Darmteile hatten keine fördernde Wirkung auf diese Verdauung.

Schliesslich sind von P. KRÜGER (1929) noch einige Angaben über *Octopus vulgaris* und *Eledone moschata* gemacht worden. Der Magensaft verdaute Pepton und Alanylglycin. Bei *Eledone* wurde ein Optimum der Peptonspaltung bei pH 7.5 gefunden, aber zwischen pH 5.0 und pH 7.5 ist keine Bestimmung ausgeführt worden, so dass die Möglichkeit einer anderen pH-Optimumlage nicht ausgeschlossen ist.

Eigene Untersuchungen:

1. Leberextrakt.

a. Verdauung von Casein.

Verdauungsgemisch: 6 ccm Phosphatpuffer, 3 ccm Caseinlösung 6%, 1 ccm Leberextrakt, pH 6.02 (elektrometrisch gemessen), Temp. 30° C. Bestimmung im Mikro-VAN SLYKE, pro Titration 2 ccm.

Zunahme in 150 Minuten: 0.32 ccm 0.1 N. NH₂.

Idem mit der Alkoholtitration nach WILLSTÄTTER und WALDSCHMIDT-LEITZ (1921).

Verdauungsgemisch wie oben, pro Titration 2 ccm.

Blankobestimmung: 4.10 ccm alk. NaOH 0.085 N.

Nach 90 Minuten: 4.55 ccm „ „ 0.085 N.

Zunahme: 0.45 ccm „ „ 0.085 N.

Der Endpunkt der Titration wurde so bestimmt, dass zugleich mit obengenanntem Verdauungsgemisch ein Kontrollgemisch mit gekochtem Drüsenextrakt zur Vergleichung der Farbe angesetzt wurde. Von diesem wurden 2 ccm zur gewünschten blauen Farbe titriert, welche als Vergleichsfarbe benutzt wurde. Auch bei der Mikrotitration nach W. GRASSMANN wurde so verfahren. Die ammoniakalische CuCl_2 -Lösung nämlich, welche in der ursprünglichen Titration als Vergleichsflüssigkeit benutzt wird, stimmte meistens, was die Art der Farbe anbetrifft, nicht mit der Indikatorfarbe des Verdauungsgemisches überein, weil dieses oft gefärbte Flüssigkeiten wie Pepton, Drüsenextrakte u.s.w. enthält.

b. Verdauung von Pepton (ex alb.).

Verdauungsgemisch: 6 ccm Phosphatpuffer 0.2 Mol., 3 ccm Peptonlösung 5%, 1 ccm Drüsenextrakt, pH 6.00, Temp. 30° C. Titration nach WILLSTÄTTER und WALDSCHMIDT-LEITZ, pro Titration 2 ccm.

Blankobestimmung: 4.21 ccm alk. NaOH 0.085 N.

Nach 60 Minuten: 4.43 ccm „ „ 0.085 N.

Nach 150 Minuten: 4.61 ccm „ „ 0.085 N.

Zuwachs in 150 Min.: 0.40 ccm „ „ 0.085 N.

Auf Grund der Verdauung von Casein darf man auf Proteinasewirkung des Leberextraktes schliessen.

c. Spaltung von Chloracetyl-l-tyrosin.

Verdauungsgemisch: 1 ccm Puffer 0.2 Mol., 0.5 ccm Substratlösung 1%, 0.3 ccm Leberextrakt, pH 6.34, Temp. 38° C., Mikrobestimmung nach W. GRASSMANN, pro Titration 0.4 ccm.

Blankowert: 4.60 ccm alk. KOH n/100.

Nach 3½ Stunden: 5.16 ccm „ „ n/100.

Zuwachs: 0.56 ccm „ „ n/100.

Eine Carboxypolypeptidasewirkung konnte also nachgewiesen werden.

d. Verdauung von Leucyldiglycin.

1 ccm Phosphatpuffer 0.2 Mol., 0.5 ccm Leucyldiglycin 1%, 0.3 ccm Drüsenextrakt. pH 7.82, Temp. 38° C. Bestimmung nach W. GRASSMANN, pro Titration 0.4 ccm.

Blankobestimmung: 3.01 ccm alk. KOH n/100.

Nach 4 Stunden: 3.92 ccm „ „ n/100.

Zuwachs in 4 Stunden: 0.91 ccm „ „ n/100.

Auch Aminopolypeptidasewirkung konnte daher nachgewiesen werden.

e. Spaltung von Glycylglycin.

4 ccm Phosphatpuffer 0.2 Mol., 2 ccm Glycylglycinlösung 1%, 0.5 ccm Leberauszug, pH 7.24, Temp. 38° C. Bestimmung im Mikro-VAN SLYKE, pro Titration 1 ccm.

Blankowert:	2.10 ccm Aminostickstoff.
Nach 3 Stunden:	2.44 ccm „
Zuwachs:	0.34 ccm „

Eine Dipeptidasewirkung ist somit nachgewiesen worden.

Zusammenfassend kann man also sagen, dass im Leberextrakt alle diejenigen Fraktionen der Eiweisspaltung vorkommen, welche zu einem vollständigen Abbruch des Eiweissmoleküls bis zu Aminosäuren notwendig sind.

2. Pankreasextrakt.

a. Verdauung von Gelatine.

Reaktionsgemisch: 5 ccm Phosphatpuffer 0.2 Mol., 4 ccm Gelatinelösung 3%, pH 8.26, Temp. 38° C., Alkoholtitration nach WILLSTÄTTER und WALDSCHMIDT-LEITZ, pro Titration 2 ccm.

Blankobestimmung:	1.65 ccm alk. KOH n/10.
Nach 2 Stunden:	1.69 ccm „ „ n/10.
Nach 5 Stunden:	1.70 ccm „ „ n/10.

Fast keine Aciditätszunahme.

Im Rohextrakt des Pankreas kommt also fast keine Proteinasewirkung vor.

b. Verdauung von Pepton.

5 ccm Phosphatpuffer 0.2 Mol., 5 ccm Peptonlösung 5%, 1 ccm Pankreasauszug, pH 6.13, Temp. 38° C. Bestimmung nach WILLSTÄTTER und WALDSCHMIDT-LEITZ, pro Titr. 2 ccm.

Blankowert:	1.92 ccm alk. KOH n/10.
Nach 135 Minuten:	1.96 ccm „ „ n/10.
Nach 18 Stunden:	2.01 ccm „ „ n/10.

Idem bei pH 7.84.

Blankobestimmung:	1.10 ccm alk. KOH n/10.
Nach 100 Minuten:	1.11 ccm „ „ n/10.
Nach 12 Stunden:	1.14 ccm „ „ n/10.

Fast keine Aciditätszunahme.

c. Spaltung von Chloracetyl-l-tyrosin.

Verdauungsgemisch: 1 ccm Phosphatpuffer 0.2 Mol., 0.5 ccm Substrat-

lösung 1%, 0.3 ccm Drüsenextrakt, pH 6.33, Temp. 38° C. Mikrobestimmung nach W. GRASSMANN, pro Titration 0.4 ccm.

Blankobestimmung: 4.54 ccm alk. KOH n/100.

Nach 4½ Stunden: 4.59 ccm „ „ n/100.

Wenig Säurezunahme.

d. Spaltung von Leucyldiglycin.

Reaktionsgemisch: 1 ccm Puffer 0.2 Mol., 0.5 ccm Leucyldiglycinlösung 2%, 0.3 ccm Pankreasauszug, pH 7.83. Temp. 38° C. Mikrobestimmung nach W. GRASSMANN, pro Titration 0.4 ccm.

Blanko: 3.01 ccm alk. KOH n/100.

Nach 4 Stunden: 4.12 ccm „ „ n/100.

Zuwachs: 1.11 ccm „ „ n/100.

Es gibt im Pankreasauszug eine Aminopolypeptidasewirkung.

e. Spaltung von Glycylglycin.

1 ccm Phosphatpuffer 0.2 Mol., 0.5 ccm Glycylglycinlösung 2%, 0.3 ccm Pankreasextrakt, pH 7.81, Temp. 38° C. Titration nach W. GRASSMANN, pro Titration 0.4 ccm.

Blankowert: 3.24 ccm alk. KOH n/100.

Nach 4 Stunden: 5.26 ccm „ „ n/100.

Zuwachs in 4 Stunden: 2.02 ccm „ „ n/100.

Auch eine Dipeptidasewirkung liess sich also nachweisen.

Augenscheinlich ist also nur „Erepsin“ im Pankreasauszug nachzuweisen, denn native Eiweisskörper werden nicht, einfache Peptide aber gut gespalten.

pH-Optima der Pankreasproteasen.

a. Aminopolypeptidase.

1 ccm Puffer 0.2 Mol., 0.5 ccm Leucyldiglycin 2%, 0.3 ccm Pankreasauszug, Temp. 38° C. Zeit 3 Stunden. Mikrobestimmung nach W. GRASSMANN, pro Titration 0.4 ccm.

Puffer	pH (kolorim. gemessen)	Aciditätszuwachs (ccm alk. KOH n/100)
Phosphat	6.81	0.24
„	6.96	0.38
„	7.12	0.50
„	7.30	0.56
„	7.42	0.72
„	7.56	0.86
„	7.70	1.06
„	7.83	0.92
Glycocoll-NaOH	8.28	0.82
„ „	8.53	0.36

Siehe auch Abb. 5.

b. Dipeptidase.

1 ccm Puffer, 0.4 ccm Glycylglycin 2%, 0.3 ccm Pankreasauszug, Temp. 38° C., Zeit 2½ Stunde. Mikrobestimmung nach W. GRASSMANN, pro Titration 0.3 ccm. Siehe auch Abb. 5.

Puffer	pH (kolorim. gemessen)	Aciditätszuwachs (ccm alk. KOH n/100)
Borat	7.08	0.22
„	7.50	0.31
„	7.80	0.52
„	8.03	0.44
„	8.23	0.28
„	8.41	0.19
„	8.56	0.12
„	8.70	0.08
„	8.83	0.02

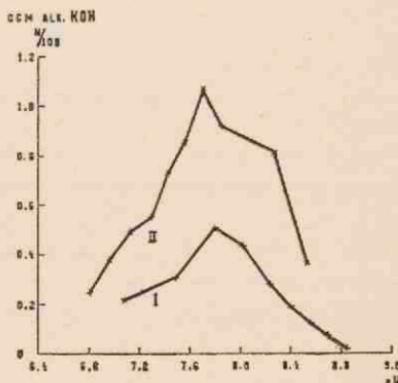


Abb. 5. Spaltung von Leucyldiglycin (II) und Glycylglycin (I) durch Pankreasextrakt und Wasserstoffzahl.

pH-Optima der Leberproteasen.

a. Proteinase.

Casein. 6 ccm Puffer, 3 ccm Caseinlösung 6%, 1 ccm Leberauszug, Temp. 30° C., Zeit 120 Minuten. Alkoholtitration nach WILLSTÄTTER und WALDSCHMIDT-LEITZ, pro Titration 2 ccm.

Puffer (0.2 Mol.)	pH elektrom. gemessen	Aciditätszunahme ccm alk. NaOH 0.085 N.
K.bipht.-NaOH	5.12	0.19
KH ₂ PO ₄ -Na ₂ HPO ₄	5.90	0.42
„ „	6.02	0.44
„ „	6.60	0.31
„ „	7.31	0.11
„ „	7.59	0.15

Siehe auch Abb. 6.

Gelatine.

6 ccm Puffer 0.2 Mol., 3 ccm Gelatinelösung 5%, 1 ccm Leberauszug, Temp. 30° C., Zeit 90 Minuten. Alkoholtitration nach WILLSTÄTTER und WALDSCHMIDT-LEITZ, pro Titration 2 ccm.

Puffer	pH elektrom. gemessen	Aciditätszuwachs ccm alk. NaOH 0.085 N.
K.bipht.-NaOH	4.93	0.24
„ „	5.26	0.46
KH ₂ PO ₄ -Na ₂ HPO ₄	5.52	0.51
„ „	6.05	0.40
„ „	6.41	0.20
„ „	6.89	0.31
„ „	7.64	0.29
Na Borat-HCl	8.14	—

Siehe auch Abb. 6.

Pepton (ex alb.).

6 ccm Puffer 0.2 Mol., 3 ccm Peptonlösung 5%, 1 ccm Leberauszug, Temp. 30° C., Zeit 90 Minuten. Alkoholtitration nach WILLSTÄTTER und WALDSCHMIDT-LEITZ, pro Titration 2 ccm. Siehe auch Abb. 6.

Puffer	pH elektrom. gemessen	Aciditätszuwachs ccm alk. NaOH 0.085 N.
KH ₂ PO ₄ -Na ₂ HPO ₄	5.50	0.25
„ „	6.06	0.39
„ „	6.41	0.29
„ „	6.90	0.14

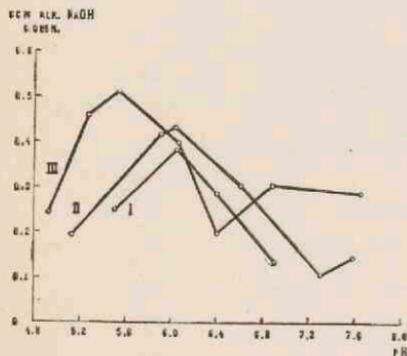


Abb. 6. Spaltung von Casein (II), Gelatine (III) und Pepton (I) durch Leberextrakt und Wasserstoffzahl.

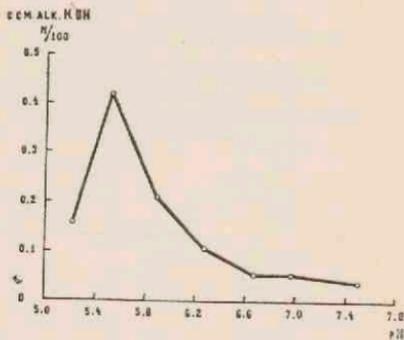


Abb. 7. Spaltung von Chloracetyl-L-tyrosin durch Leberextrakt und Wasserstoffzahl.

b. Carboxypolypeptidase.

1 ccm Puffer 0.2 Mol., 0.3 ccm Leberauszug, 0.5 ccm Chloracetyl-l-tyrosin 2%, Temp. 37.8° C., Zeit 3 Stunden. Mikrobestimmung nach W. GRASSMANN pro Titration 0.4 ccm. Siehe auch Abb. 7.

Puffer	pH elektrom. gemessen	Aciditätszuwachs ccm alk. KOH n/100
Phosphat	5.22	0.16
„	5.54	0.42
„	5.90	0.21
„	6.26	0.11
„	6.68	0.06
„	6.98	0.06
„	7.52	0.04

c. Aminopolypeptidase.

1 ccm Puffer 0.2 Mol., 0.5 ccm Leucyldiglycin 2%, 0.3 ccm Leberauszug, Temp. 37.8° C., während 3½ Stunde. Mikrobestimmung nach W. GRASSMANN, pro Titration 0.4 ccm.

Puffer	pH elektrom. gemessen	Aciditätszuwachs ccm KOH n/100
Glycocol-NaOH	6.62	0.06
„ „	7.00	0.35
„ „	7.38	0.43
„ „	8.00	0.99
„ „	8.32	1.39
„ „	8.52	1.16
„ „	8.70	0.82

Siehe auch Abb. 8.

d. Dipeptidase.

1 ccm Puffer 0.2 Mol., 0.5 ccm Glycylglycin 2%, 0.3 ccm Leberauszug, Temp. 38.1° C., während 3½ Stunde. Titration nach W. GRASSMANN, pro Titration 0.4 ccm. Siehe auch Abb. 8.

Puffer	pH elektrom. gemessen	Aciditätszuwachs ccm alk. KOH n/100
Glycocol-NaOH	6.67	0.06
„ „	7.06	0.27
„ „	7.43	0.53
„ „	8.03	2.64
„ „	8.34	2.71
„ „	8.56	1.79

pH-Optima der Magensaftproteinase.

Casein.

3 ccm Puffer 0.2 Mol., 2 ccm Caseinlösung 3%, 1 ccm Magensaft, Temp. 35° C., während 10 Stunden. Mikrobestimmung nach W. GRASSMANN, pro Titration 0.5 ccm.

Puffer	pH elektrom. gemessen	Aciditätszuwachs ccm alk. KOH n/100
K.bipht.-NaOH	5.26	0.23
„ „	5.94	0.44
„ „	6.27	0.56
„ „	6.57	0.62
„ „	6.84	0.72
„ „	7.60	0.58

Siehe Abb. 9.

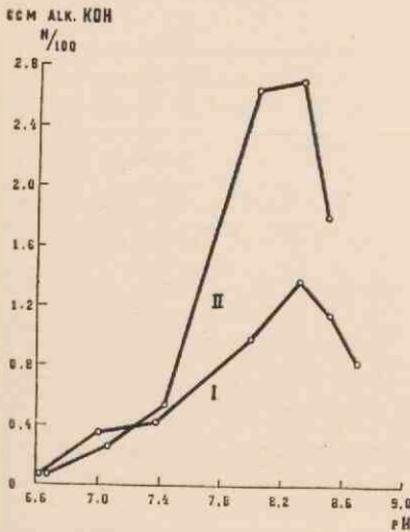


Abb. 8. Spaltung von Leucyldiglycin (I) und Glycylglycin (II) durch Leberextrakt und Wasserstoffzahl.

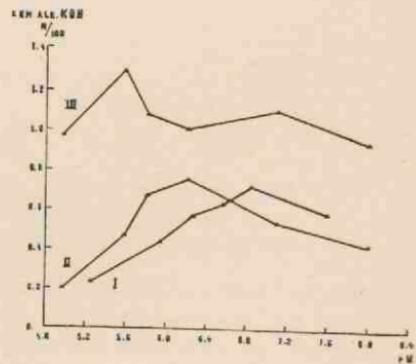


Abb. 9. Spaltung von Casein (I), Gelatine (III) und Pepton (II) durch Magensaft und Wasserstoffzahl.

Gelatine.

3 ccm Puffer 0.2 Mol., 2 ccm Gelatinelösung 5%, 1 ccm Magensaft, Temp. 35° C., während 9 Stunden. Bestimmung nach W. GRASSMANN, pro Titration 0.5 ccm.

Puffer	pH elektrom. gemessen	Aciditätszuwachs ccm alk. KOH n/100
K.bipht.-NaOH	4.98	0.98
„ „	5.59	1.31
„ „	5.81	1.08
„ „	6.22	1.01
„ „	7.10	1.10
Glycocoll-NaOH	8.10	0.84

Siehe auch Abb. 9.

Pepton.

3 ccm Puffer 0.2 Mol., 2 ccm Peptonlösung 5%, 1 ccm Magensaft, Temp. 35° C., während 8 Stunden. Mikrobestimmung nach W. GRASSMANN, pro-Titration 0.5 ccm. Siehe auch Abb. 9.

Puffer	pH elektrom. gemessen	Aciditätszuwachs ccm alk. KOH n/100
K.bipht.-NaOH	4.98	0.20
„ „	5.59	0.47
„ „	5.81	0.68
„ „	6.22	0.75
„ „	7.10	0.53
Glycocoll-NaOH	8.10	0.43

Aus obenstehenden Tabellen geht hervor, dass der Unterschied in der Lage der pH-Optima zwischen Magensaft und Leberextrakt gering ist.

Auch Carboxypolypeptidasewirkung lässt sich im Magensaft nachweisen:

Verdauungsgemisch: 1 ccm Phosphatpuffer 0.2 Mol., 0.5 ccm Chloracetyltyrosinlösung 2%, 0.3 ccm Magensaft, pH 6.14, Temp. 35° C. Mikrobestimmung nach W. GRASSMANN, pro Titr. 0.5 ccm.

Blankowert: 4.72 ccm alk. KOH n/100.

Nach 5 Stunden: 5.14 ccm „ „ n/100.

Zuwachs: 0.42 ccm „ „ n/100.

Aminopolypeptidasewirkung ebenfalls vorhanden:

1 ccm Puffer (Glycocoll-NaOH 0.2 Mol.), 0.5 ccm Leucyldiglycin 2%, 0.3 ccm Magensaft, Temp. 35° C, pH 8.14. Bestimmung nach W. GRASSMANN, pro Titration 0.5 ccm.

Blankobestimmung: 2.96 ccm alk. KOH n/100.

Nach 4 Stunden: 3.71 ccm „ „ n/100.

Zuwachs: 0.75 ccm „ „ n/100.

Dipeptidasewirkung idem:

1 ccm Puffer (Glycocoll-NaOH 0.2 Mol.), 0.5 ccm Glycylglycin 2%, 0.3 ccm Magensaft, Temp. 36° C., pH 8.21. Bestimmung nach W. GRASSMANN, pro Titration 0.5 ccm.

Blanko: 2.54 ccm alk. KOH n/100.

Nach 5 Stunden: 3.41 ccm „ „ n/100.

Zuwachs: 0.87 ccm „ „ n/100.

Aktivierung der Extrakte.

Versucht wurde, die Glycerinextrakte der beiden Mitteldarmdrüsen mit den für die Wirbeltierproteasen bekannten Aktivatoren zu aktivieren. Als solche kommen die Zookinase und die Enterokinase in Betracht, erstere als Aktivator der Gewebeproteinase, letztere der Pankreasproteinase. Aus den Untersuchungen von WALDSCHMIDT-LEITZ, GRASSMANN u.a. ist hervorgegangen, dass die Zookinase sich völlig durch H_2S und die reduzierte (SH) Form des Glutathions ersetzen lässt, mit der der Aktivator identisch sein soll. Für Enterokinase ist bis jetzt noch kein chemisches Äquivalent gefunden worden.

Für meine Untersuchungen benutzte ich H_2S , Glutathion (SH) und Enterokinase.

Der H_2S wurde aus Schwefeleisen und Salzsäure, die Enterokinase nach den Angaben von WALDSCHMIDT-LEITZ (1923) aus dem Schweinedünndarm hergestellt. Das Glutathion wurde von der Firma Hoffmann und La Roche in Basel bezogen.

Herstellung der Enterokinaselösung:

Von 10 Schweinen wurden die obersten, 1 m langen Stücke des Dünndarmes gesammelt. Nach Auswaschen mit Leitungswasser wurde die Schleimhaut mit einem Objektglas abgeschabt und gewogen (199 gr.). Dieser Brei wurde mit 600 gr. Azeton geschüttelt, nach dreistündigem Stehen filtriert, das Präzipitat nochmals mit der gleichen Menge Azeton behandelt, schliesslich mit 300 gr. Azeton + 300 gr. Äther und mit zweimal 600 gr. Äther. Nach Filtrieren wurde das Pulver an der Luft getrocknet, gemahlen und gesiebt. Das Gewicht des allerfeinsten Pulvers betrug 17 gr., d.h. etwa 9% des Ausgangsmaterials.

Zur Darstellung der Enterokinase wurden 400 mg dieses Darmpulvers während 3 Stunden in 20 ccm 0.05 N. Ammonia eingeweicht, abfiltriert und das Filtrat am Faust-Heimschen Apparat von NH_3 befreit. Nach Hinzufügung von 20 ccm konzentriertem Glycerin wurde die Flüssigkeit für die Versuche benutzt und in der Kälte aufbewahrt.

Die Enterokinaselösung war Erepsinfrei:

1 ccm Puffer (Glycoll-NaOH), 0.5 ccm Glycylglycin 2%, 0.3 ccm Enterokinaselösung, Temp. 37° C., pH 8.27, Verdauung während 3 Stunden. Mikrobestimmung nach W. GRASSMANN, pro Titration 0.5 ccm.

Blankwert: 3.82 ccm alk. KOH n/100.

Nach 3 Stunden: 3.87 ccm „ „ n/100.

Zuwachs: 0.05 ccm „ „ n/100.

Das Präparat ist also Erepsinfrei.

Die Enterokinasewirkung wurde an einem Glycerinextrakt eines frischen Rinderpankreas geprüft:

I.	II.	III.
1 ccm Puffer	1 ccm Puffer	1 ccm Puffer
(K.bipht.-NaOH)	1 ccm Wasser	1 ccm Enterokinase-
1 ccm Wasser	1 ccm Enzymlösung	lösung
1 ccm gekochte		1 ccm Enzymlösung
Enzymlösung		

Obenerwähnte 3 Enzymgemische wurden zur Aktivierung des Enzyms während 30 Minuten in einem Wasserbad von 37° C. belassen und nach dieser Zeit 2 ccm Caseinlösung 3% hinzugefügt. Der pH war 7.93. Verdauung während 45 Minuten bei 37° C. Mikrobestimmung nach W. GRASSMANN, pro Titration 0.4 ccm.

Aciditätszuwachs in der Mischung II: 0.45 ccm alk. KOH n/100.

Aciditätszuwachs in der Mischung III: 1.83 ccm „ „ n/100.

Nach Enterokinaseeinwirkung war also ein erhöhter Aciditätszuwachs von 1.38 ccm alk. KOH n/100 festzustellen.

Versuche mit H₂S.

A. Leberextrakt.

I.	II.	III.
1 ccm Puffer	1 ccm Puffer	1 ccm Puffer
(K.bipht.-NaOH)	0.5 ccm Leberauszug	0.5 ccm Leberauszug,
0.5 ccm gekochter		durch welchen während
Leberauszug		20 Min. H ₂ S geleitet
		worden ist
1 ccm Caseinlösung 3%	1 ccm Caseinlösung 3%	1 ccm Caseinlösung 3%

Der pH der Verdauungsgemische war 6.91 (elektrometrisch gemessen). Nachdem H₂S durch die Enzymlösung geleitet worden war, wurde neutralisiert und das Substrat hinzugefügt.

Temperatur 37° C., Verdauung während 4 Stunden. Mikrobestimmung nach W. GRASSMANN, pro Titration 0.4 ccm.

Verdauungsgemisch	H ₂ S durchgeleitet	Aciditätszunahme in 4 Stunden
II	—	0.79 ccm alk. KOH n/100
III	20 Minuten	0.81 ccm „ „ n/100
III	65 Minuten	0.49 ccm „ „ n/100

Es findet also keine Aktivierung statt; längere Durchleitung des H₂S hat eine Herabsetzung der Enzymwirkung zur Folge, vermutlich wegen Schädigung des Enzyms.

B. Pankreasextrakt.

Zur Aktivierung des Pankreasextraktes wurde verfahren wie für den Leberauszug beschrieben worden ist. Temp. 37° C., pH 7.00, Zeit 6 Stunden.

Verdauungsgemisch	H ₂ S durchgeleitet	Aciditätszuwachs in 6 Stunden
II	—	0.07 ccm alk. KOH n/100
III	30 Minuten	0.08 ccm „ „ n/100
III	70 Minuten	0.06 ccm „ „ n/100
III	90 Minuten	0.05 ccm „ „ n/100

Auch der Pankreasextrakt lässt sich nicht mit H₂S aktivieren.

Versuche mit Glutathion (SH).

Wenn man bei Verdauungsversuchen das Glutathion in seiner reduzierten Form behalten will, sind spezielle Vorsichtsmaßnahmen notwendig zur Verhinderung einer Autoxydation dieses Stoffes zur Disulfidform, weil es nur die S-H-Form ist welche aktivierend auf die katheptische Proteinase einwirkt¹⁾. Hierzu wäre es wünschenswert die Versuche bei niedriger Wasserstoffzahl (pH < 4) und völliger Abwesenheit von Cu- und Fe-Ionen auszuführen, weil diese Metallionen die Autoxydation stark fördern. Beide Bedingungen konnten in meinen Versuchen nicht erfüllt werden. Erstens bereitet das Arbeiten bei solcher niedriger Wasserstoffzahl zu viel Schwierigkeiten, z.B. durch Ausflockung des Cascins und geringe Wirksamkeit des Enzyms, zweitens dürften die benutzten Extrakte zweifellos reich an Metallionen sein (HENZE, 1901).

¹⁾ Vgl. auch WALDSCHMIDT-LEITZ, SCHARIKOVA und SCHÄFFNER (1933).

Die Versuche wurden also bei pH 6 ausgeführt, die Flüssigkeiten mittels Wasserstoff von Sauerstoff befreit und während der Aktivation und Verdauung mittels einer Schicht Toluol unter Luftabschluss gehalten.

A. Leberextrakt.

I.	II.	III.
4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH 0.2 Mol.)	4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH 0.2 Mol.)	4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH 0.2 Mol.)
1 ccm Leberauszug	1 ccm Leberauszug	1 ccm Leberauszug
1 ccm Glutathion 0.05 Mol.	1 ccm Wasser	1 ccm Glutathion 0.05 Mol.
2 ccm Caseinlösung 3%	2 ccm Caseinlösung 3%	2 ccm NaOH 1/40 N.
Aktivation während 75 Min. Temp. 35° C.	Temp. 35° C., Zeit: 4½ Stunde, pH 6.09	Temp. 35° C., Zeit: 4½ Stunde, pH 6.10
Zeit der Verdauung 4½ Stunde, pH 6.07		
Bestimmung nach W. GRASSMANN	Bestimmung nach W. GRASSMANN	Bestimmung nach W. GRASSMANN
pro Titration 0.5 ccm	pro Titration 0.5 ccm	pro Titration 0.5 ccm
Blankowert: 2.22 ccm	Blankowert: 1.34 ccm	Blankowert: 1.76 ccm
alk. KOH n/100	alk. KOH n/100	alk. KOH n/100
Nach 4½ St.: 2.76 ccm	Nach 4½ St.: 1.80 ccm	Nach 4½ St.: 1.88 ccm
alk. KOH n/100	alk. KOH n/100	alk. KOH n/100
Zuwachs: 0.54 ccm	Zuwachs: 0.46 ccm	Zuwachs: 0.12 ccm
alk. KOH n/100	alk. KOH n/100	alk. KOH n/100

Aus den Tabellen geht hervor, dass die Aciditätszunahme nach Einwirkung des Leberextraktes auf Glutathion allein, ziemlich gering ist (Tabelle III); offenbar ist doch ein gewisser Teil der reduzierten Form in die Disulfidform (S-S) übergegangen, weil nach GRASSMANN, DIJCKERHOFF und EIBELER (1930) nur die letzte Form enzymatisch spaltbar ist. Weiter geht hervor, dass der Aciditätszuwachs bei der Caseinverdauung nach Berührung des Enzyms mit Glutathion (Tabelle I) nicht grösser ist als bei Spaltung der beiden Stoffe einzeln (Tab. II und III).

Von einer Aktivation ist also nicht die Rede.

B. Pankreasextrakt.

I.	II.
4 cmm Puffer (K.bipht.-NaOH 0.2 Mol.)	4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH 0.2 Mol.)
1 ccm Pankreasextrakt	1 ccm Pankreasextrakt
1 ccm Glutathionlösung 0.05 Mol.	1 ccm Glutathionlösung 0.05 Mol.

I.	II.
2 ccm Cascinlösung 3%	2 ccm NaOH 1/40 N
Aktivierung, während 60 Min. bei 35° C., Temp. 35° C.	Temp. 35° C., pH 6.08
pH 6.06. Zeit 5 Stunden	
Bestimmung nach W. GRASSMANN pro Titration 0.5 ccm	Bestimmung nach W. GRASSMANN pro Titration 0.5 ccm
Blankowert: 3.97 ccm alk. KOH n/100	Blankowert: 3.56 ccm alk. KOH n/100
Nach 5 St.: 4.05 ccm alk KOH n/100	Nach 5 St.: 3.57 ccm alk. KOH n/100
Zuwachs: 0.08 ccm alk KOH n/100	Zuwachs: 0.01 ccm alk. KOH n/100

Der Pankreasauszug lässt sich also nicht mit Glutathion (S-H) aktivieren; der geringe Aciditätszuwachs (Tab. I) ist die Folge der Einwirkung des Enzyms auf Casein allein (Siehe auch Versuche mit H₂S).

Schliesslich liess ich beide Extrakte auf Glutathion einwirken ohne vorheriger Befreiung der Verdauungsgemische von Sauerstoff.

I.	II.
4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH 0.2 Mol.)	4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH 0.2 Mol.)
1 ccm Leberextrakt	1 ccm Pankreasextrakt
1 ccm Glutathion 0.05 Mol.	1 ccm Glutathion 0.05 Mol.
2 ccm NaOH 1/40 N	2 ccm NaOH 1/40 N
pH 6.10. Temp. 35° C.	pH 6.08. Temp. 35° C.
Verdauung während 5 Stunden	Während 5 Stunden
Bestimmung nach W. GRASSMANN pro Titration 0.5 ccm	Bestimmung nach W. GRASSMANN pro Titration 0.5 ccm
Blankowert: 2.31 ccm alk. KOH n/100	Blankowert: 2.20 ccm alk. KOH n/100
Nach 5 St.: 2.95 ccm alk. KOH n/100	Nach 5 St.: 2.41 ccm alk. KOH n/100
Ac. Zunahme: 0.64 ccm alk. KOH n/100	Ac. Zunahme: 0.21 ccm alk. KOH n/100

Das Glutathion ist also, offenbar nach seiner Autoxydation, gut spaltbar geworden und wenn wir weiter mit GRASSMANN, DIJCKERHOFF und EIBELER (1930) annehmen dürfen, dass es die Carboxypolypeptidase ist, welche die erwähnte Spaltung verursacht, so wird die grössere Wirksamkeit des Leberauszuges, verglichen mit der des Pankreasauszuges auf Glutathion deutlich; nach Analogie wenigstens mit dem Verhalten beider Extrakte auf Chloracetyl-L-tyrosin.

Versuche mit Enterokinase.

A. Leberextrakt.

I.	II.	III.
2 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH)	2 ccm Puffer	2 ccm Puffer
1 ccm gekochter Leberextrakt	1 ccm Leberextrakt + 1 ccm Wasser	1 ccm Leberextrakt + 1 ccm Enterokinase- lösung
+ 1 ccm Wasser		

Nach einstündigem Stehen im Wasserbad bei 37° C., wurde jedem Gemisch 2 ccm Caseinlösung 3% hinzugefügt. Der pH war 6.84. Verdauung während 3 Stunden bei 37° C. Mikrobestimmung nach W. GRASSMANN, pro Titration 0.5 ccm.

Aciditätszuwachs in der Mischung II: 0.69 ccm alk. KOH n/100

Aciditätszuwachs in der Mischung III: 0.71 ccm alk. KOH n/100

Der Leberextrakt lässt sich also nicht mit Enterokinase aktivieren.

B. Pankreasextrakt.

I.	II.
4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH 0.2 Mol.)	4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH 0.2 Mol.)
1 ccm Pankreasextrakt	1 ccm Pankreasextrakt
1 ccm Wasser	1 ccm Enterokinaselösung
2 ccm Caseinlösung 3%	2 ccm Caseinlösung 3%
pH 6.78. Temp. 35° C.	pH 6.79. Temp. 35° C.
Zeit 5 Stunden. Mikrotitration nach W. GRASSMANN	Zeit 5 Stunden. Mikrotitration nach W. GRASSMANN
pro Titration 0.5 ccm	pro Titration 0.5 ccm
Blankowert: 2.47 ccm alk. KOH n/100	Blankowert: 2.51 ccm alk. KOH n/100
Nach 5 St.: 2.56 ccm alk. KOH n/100	Nach 5 St.: 3.33 ccm alk. KOH n/100
Zuwachs: 0.09 ccm alk. KOH n/100	Zuwachs: 0.82 ccm alk. KOH n/100

Der Pankreasextrakt lässt sich also gut mit Enterokinase aktivieren; die Caseinverdauung ist nach Hinzufügung der Enterokinase viel ausgiebiger als ohne Aktivator. Die Enterokinaselösung allein hatte keine Wirkung auf Casein (Aciditätszuwachs in 5 Stunden 0.03 ccm alk. KOH n/100).

Von den geprüften Extrakten lässt sich also nur der Pankreasextrakt aktivieren und zwar ausschliesslich durch Enterokinase. Dieses spricht dafür, dass die Pankreasproteinase von Sepia mit der Pankreasproteinase der Wirbeltiere und nicht mit der Proteinase aus den Geweben vergleichbar ist.

Es lag nun nahe an das Vorkommen eines natürlichen Akti-

vators bei Sepia zu denken und falls diese Meinung zutrifft, zu untersuchen an welcher Stelle die Kinase sich findet. Zuerst wurde an die Möglichkeit gedacht, dass vielleicht von der Leber ein derartiger Stoff abgesondert würde, weil ja die Sekretionsprodukte der beiden Drüsen sich höchstwahrscheinlich vermischen bevor sie ins Coecum gelangen.

I.	II.	III.
3 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH 0.2 Mol.)	3 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH)	3 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH)
1 ccm Leberextrakt	1 ccm Pankreasextrakt	1 ccm Leberextrakt
1 ccm Wasser	1 ccm Wasser	1 ccm Pankreasextrakt
1 ccm Caseinlösung 5%	1 ccm Caseinlösung 5%	1 ccm Caseinlösung 5%
pH 6.84, Temp. 35° C., Während 6 Stunden, Mikrobestimmung	Weiter wie unter I	Weiter wie unter I und II
nach W. GRASSMANN		
pro Titration 0.5 ccm		
Blankowert: 2.36 ccm	Blankowert: 2.21 ccm	Blankowert: 2.30 ccm
alk. KOH n/100	alk. KOH n/100	alk. KOH n/100
Nach 6 St.: 2.84 ccm	Nach 6 St.: 2.29 ccm	Nach 6 St.: 2.83 ccm
alk. KOH n/100	alk. KOH n/100	alk. KOH n/100
Zuwachs: 0.48 ccm	Zuwachs: 0.08 ccm	Zuwachs: 0.53 ccm
alk. KOH n/100	alk. KOH n/100	alk. KOH n/100

Aus obenstehenden Tabellen geht deutlich hervor, dass die Caseinverdauung durch eine Mischung des Leber- und Pankreasextraktes (Tab. III) nicht grösser ist als die Summe der Spaltungen durch jeden Extrakt für sich (Tab. I und II). Der Pankreasextrakt wird also nicht vom Leberextrakt aktiviert.

Wenn also bei Sepia wirklich eine Aktivierung in vivo stattfinden sollte, so wird diese im Darne selbst geschehen und die verschiedenen Darmteile (Magen, Coecum, Darm) wurden daher auf das Vorkommen einer Kinase geprüft. Dazu wurden Extrakte der erwähnten Darmteile eines frischen Exemplares von Sepia hergestellt und ihre Wirkung auf Leber- und Pankreasextrakt geprüft.

A. Magenwandextrakt.

1. Einfluss auf den Leberauszug:

I.	II.	III.
4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH 0.2 Mol.)	4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH)	4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH)
1 ccm Leberextrakt	1 ccm Leberextrakt	1 ccm Magenwand- extrakt
	1 ccm Wasser	

I.	II.	III.
1 ccm Magenwand- extrakt ¹⁾		1 ccm Wasser
2 ccm Cascin 3%	Weiter wie unter I	Weiter wie unter I und II
pH 6.47, Temp. 35° C., Zeit 4 Stunden. Be- stimmung nach. W.		
GRASSMANN		
pro Titration 0.5 ccm		
Blankowert: 2.84 ccm	Blankowert: 2.37 ccm	Blankowert: 1.83 ccm
alk. KOH n/100	alk. KOH n/100	alk. KOH n/100
Nach 4 St.: 3.10 ccm	Nach 4 St.: 2.65 ccm	Nach $\frac{1}{4}$ St.: 1.85 ccm
alk. KOH n/100	alk. KOH n/100	alk. KOH n/100
Zuwachs: 0.26 ccm	Zuwachs: 0.28 ccm	Zuwachs: 0.02 ccm
alk. KOH n/100	alk. KOH n/100	alk. KOH n/100

Die Caseinspaltung wird also nicht erhöht nach Mischung des Leberextraktes mit einem Extrakt der Magenwand. Der Magenwandextrakt selbst spaltet keine Eiweisskörper.

2. Einfluss auf den Pankreasauszug:

I.	II.
4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH 0.2 Mol.)	4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH 0.2 Mol.)
1 ccm Pankreasextrakt	1 ccm Pankreasextrakt
2 ccm Casein 3%	2 ccm Casein 3%
1 ccm Magenwandextrakt ²⁾	1 ccm Wasser
pH 6.42, Temp. 35° C., Zeit:	Weiter wie unter I.
4 Stunden. Mikrobestimmung nach W. GRASSMANN	
pro Titration 0.5 ccm	
Blankowert: 2.28 ccm alk. KOH n/100	Blankowert: 2.31 ccm alk. KOH n/100
Nach 4 St.: 2.36 ccm alk. KOH n/100	Nach 4 St.: 2.39 ccm alk. KOH n/100
Zuwachs: 0.08 ccm alk. KOH n/100	Zuwachs: 0.08 ccm alk. KOH n/100

Auch der Pankreasextrakt wird in seiner Wirkung auf Casein nicht durch den Magenwandextrakt beeinflusst.

¹⁾ Aktivation während 45 Min. bei 35° C.

²⁾ Aktivation während 60 Min. bei 35° C.

B. Coecumwandextrakt.

1. Einfluss auf den Leberextrakt.

I.	II.	III.
4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH 0.2 Mol.)	4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH)	4 ccm Puffer K.bipht.-NaOH)
2 ccm Caseinlösung 3%	2 ccm Caseinlösung 3%	2 ccm Caseinlösung 3%
1 ccm Leberextrakt	1 ccm Leberextrakt	1 ccm Coecumwand-
1 ccm Coecumwand-	1 ccm Wasser	extrakt
extrakt ¹⁾		1 ccm Wasser
pH 6.47, Temp. 35° C., Zeit 3½ Stunde, Titra- tion nach W. GRASS- MANN	Weiter wie unter I	Weiter wie unter I und II
pro Titration 0.5 ccm		
Blankowert: 2.44 ccm	Blankowert: 2.37 ccm	Blankowert: 1.79 ccm
alk. KOH n/100	alk. KOH n/100	alk. KOH n/100
Nach 3½ St.: 2.66 ccm	Nach 3½ St.: 2.59 ccm	Nach 3½ St.: 1.80 ccm
alk. KOH n/100	alk. KOH n/100	alk. KOH n/100
Zuwachs: 0.22 ccm	Zuwachs: 0.22 ccm	Zuwachs: 0.01 ccm
alk. KOH n/100	alk. KOH n/100	alk. KOH n/100

Aus den Tabellen I und II geht hervor, dass die Casein-
spaltung durch Leberextrakt nicht vom Coecumwandextrakt
beeinflusst wird. Der Coecumwandextrakt selbst enthält keine
Proteinase.

2. Einfluss auf den Pankreasextrakt:

I.	II.
4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH 0.2 Mol.)	4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH)
2 ccm Casein 3%	2 ccm Casein 3%
1 ccm Pankreasextrakt	1 ccm Pankreasextrakt
1 ccm Coecumwandextrakt ¹⁾	1 ccm Wasser
pH 6.43, Temp. 35° C., Zeit:	Weiter wie unter I
4 Stunden. Bestimmung nach W. GRASSMANN	
pro Titration 0.5 ccm	
Blankowert: 2.34 ccm alk. KOH	Blankowert: 1.94 ccm alk. KOH
n/100	n/100
Nach 4 St.: 2.95 ccm alk. KOH	Nach 4 St.: 2.01 ccm alk. KOH
n/100	n/100
Zuwachs: 0.61 ccm alk. KOH n/100	Zuwachs: 0.07 ccm alk. KOH n/100

¹⁾ Aktivierung während 60 Min. bei 35° C.

Der Coecumwandextrakt hat also einen deutlich aktivierenden Einfluss auf den Pankreasextrakt.

C. Darmwandextrakt.

I. Einfluss auf den Leberextrakt:

I.	II.	III.
4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH 0.2 Mol.)	4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH)	4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH)
2 ccm Caseinlösung 3%	2 ccm Caseinlösung 3%	2 ccm Caseinlösung 3%
1 ccm Leberextrakt	1 ccm Leberextrakt	1 ccm Darmwand- extrakt
1 ccm Darmwand- extrakt ¹⁾	1 ccm Wasser	1 ccm Wasser
pH 6.46, Temp. 35° C., Zeit 4 Stunden. Titra- tion nach W. GRASS- MANN	Weiter wie unter I	Weiter wie unter I und II
pro Titration 0.5 ccm		
Blankowert: 2.56 ccm alk. KOH n/100	Blankowert: 2.28 ccm alk. KOH n/100	Blankowert: 1.84 ccm alk. KOH n/100
Nach 4 St.: 2.83 ccm alk. KOH n/100	Nach 4 St.: 2.56 ccm alk. KOH n/100	Nach 4 St.: 1.87 ccm alk. KOH n/100
Zuwachs: 0.27 ccm alk. KOH n/100	Zuwachs 0.28 ccm alk. KOH n/100	Zuwachs: 0.03 ccm alk. KOH n/100

Der Darmwandextrakt, welcher keine Proteinase enthält, ist nicht zur Aktivierung des Leberauszuges imstande.

2. Einfluss auf den Pankreasextrakt:

I.	II.
4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH 0.2 Mol.)	4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH 0.2 Mol.)
2 ccm Caseinlösung 3%	2 ccm Caseinlösung 3%
1 ccm Pankreasextrakt	1 ccm Pankreasextrakt
1 ccm Darmwandextrakt	1 ccm Wasser
pH 6.45, Temp. 35° C., Zeit: 3½ Stunde. Bestimmung nach W. GRASSMANN	Weiter wie unter I
pro Titration 0.5 ccm	
Blankowert: 2.24 ccm alk. KOH n/100	Blankowert: 1.90 ccm alk. KOH n/100
Nach 3½ St.: 2.33 ccm alk. KOH n/100	Nach 3½ St.: 1.97 ccm alk. KOH n/100
Zunahme: 0.09 ccm alk. KOH n/100	Zunahme: 0.07 ccm alk. KOH n/100

Auch der Pankreasextrakt lässt sich nicht vom Darmwandauszug aktivieren.

¹⁾ Aktivation während 60 Min. bei 35° C.

Aus den obenerwähnten Versuchen geht hervor, dass die Caseinspaltung durch Pankreasextrakt allein nicht nennenswert ist, nach seiner Aktivierung durch einen Auszug der Coecumwand aber verläuft sie glatt.

Geprüft wurde, in wie weit die Verdauung von Pepton und Chloracetyl-l-tyrosin vom erwähnten Coecumwandauszug beeinflusst wird:

A. Spaltung von Pepton.

I.	II.	III.
4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH 0.2 Mol.)	4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH)	4 ccm Puffer
2 ccm Pepton- lösung 5%	2 ccm Pepton- lösung 5%	2 ccm Pepton- lösung 5%
1 ccm Pankreasextrakt	1 ccm Pankreasextrakt	1 ccm Coecumwand- extrakt
1 ccm Coecumwand- extrakt ¹⁾	1 ccm Wasser	1 ccm Wasser
pH 6.25, Temp. 35° C., Zeit 3½ Stunde, Be- stimmung nach W.	Weiter wie unter I	Weiter wie unter I und II
GRASSMANN		
pro Titration 0.5 ccm		
Blankowert: 3.25 ccm alk. KOH n/100	Blankowert: 2.95 ccm alk. KOH n/100	Blankowert: 2.53 ccm alk. KOH n/100
Nach 3½ St.: 4.04 ccm alk. KOH n/100	Nach 3½ St.: 3.06 ccm alk. KOH n/100	Nach 3½ St.: 2.60 ccm alk. KOH n/100
Zuwachs: 0.79 ccm alk. KOH n/100	Zuwachs: 0.11 ccm alk. KOH n/100	Zuwachs: 0.07 ccm alk. KOH n/100

Aus obenstehenden Tabellen geht deutlich hervor, dass Pepton vom Pankreasextrakt nur wenig gespalten wird, während nach Aktivierung desselben mit dem Coecumwandauszug eine deutliche Spaltung konstatiert werden kann.

B. Spaltung von Chloracetyl-l-tyrosin.

I.	II.	III.
4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH)	4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH)	4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH)
1 ccm Chloracetyl-l- tyrosinlösung 2%	1 ccm Chloracetyl-l- tyrosinlösung 2%	1 ccm Chloracetyl-l- tyrosinlösung 2%
1 ccm Pankreasextrakt	1 ccm Pankreasextrakt	1 ccm Coecumwand- auszug
1 ccm Coecumwand- auszug ¹⁾	1 ccm Wasser	1 ccm Wasser

¹⁾ Aktivierung während 30 Min. bei 30° C.

I.	II.	III.
pH 5.64, Temp. 35° C., Zeit 4 Stunden. Be- stimmung nach W.	Weiter wie unter I	Weiter wie unter I und II
GRASSMANN		
pro Titration 0.5 ccm		
Blankowert: 3.57 ccm	Blankowert: 3.04 ccm	Blankowert: 2.60 ccm
alk. KOH n/100	alk. KOH n/100	alk. KOH n/100
Nach 4 St.: 4.22 ccm	Nach 4 St.: 3.14 ccm	Nach 4 St.: 2.60 ccm
alk. KOH n/100	alk. KOH n/100	alk. KOH n/100
Zuwachs: 0.65 ccm	Zuwachs: 0.10 ccm	Zuwachs: 0.00 ccm
alk. KOH n/100	alk. KOH n/100	alk. KOH n/100

Also auch die Chloracetyl-l-tyrosinspaltung wird vom Coecumwandauszug stark gefördert.

Aus obenerwähnten Versuchen kann man also schliessen, dass im Pankreas von Sepia die Proteinase und die Carboxypolypeptidase sich in fast inaktiver Form vorfinden, was aus der Tatsache hervorgeht, dass Casein fast gar nicht, Pepton und Chloracetyl-l-tyrosin schlecht gespalten wird. Genannte Substrate werden aber nach Aktivierung des Pankreasextraktes mit einem Auszug der Coecumwand gut gespalten. Aus den Versuchen geht hervor, dass dieser Coecumwandauszug nur Kinase enthält und kein Enzym.

Der natürliche Aktivator bei Sepia liess sich ersetzen durch Enterokinase, nicht durch Glutathion und H₂S, und es ist also wahrscheinlich, dass die Sepia-kinase mit Enterokinase identisch ist.

Ausserdem gelang es, Wirbeltierproteinase mit Sepiakinese zu aktivieren:

I.	II.
4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH)	4 ccm Puffer (K.bipht.-NaOH)
2 ccm Caseinlösung 3%	2 ccm Caseinlösung 3%
1 ccm Rinderpankreasextrakt	1 ccm Rinderpankreasextrakt
1 ccm Coecumwandauszug	1 ccm Wasser
pH 7.62, Temp. 35° C., Zeit:	pH 7.64, Temp. 35° C., Zeit:
60 Minuten. Nach W. GRASSMANN,	60 Minuten. Nach W. GRASSMANN,
pro Titration 0.5 ccm	pro Titration 0.5 ccm
Blankowert: 3.62 ccm alk. KOH n/100	Blankowert: 3.55 ccm alk. KOH n/100
Nach 60 Min.: 5.00 ccm alk. KOH n/100	Nach 60 Min.: 3.75 ccm alk. KOH n/100
Zuwachs: 1.38 ccm alk. KOH n/100	Zuwachs: 0.20 ccm alk. KOH n/100

Also deutliche Aktivierung der Pankreasproteinase des Rindes mit der Kinase von *Sepia*. Es liegt nun auch nahe an eine Identität der Pankreasproteinase von *Sepia* mit der Pankreasproteinase der Wirbeltiere, dagegen nicht mit der Proteinase aus Geweben oder aus Hefe zu denken.

Schliesslich wurden einige Autolyseversuche mit den Drüsenextrakten und dem Magensaft angestellt:

Verdauungsgemisch: 3 ccm Puffer, 1 ccm Drüsenextrakt, b.z.w. Magensaft, pro Titration 0.5 ccm nach W. GRASSMANN. Temp. 35° C., Zeit 6 Stunden.

Puffer	Magensaft		Leberextrakt		Pankreasextrakt	
	pH	Ac. Zuwachs (ccm alk. KOH n/100)	pH	Ac. Zuwachs (ccm alk. KOH n/100)	pH	Ac. Zuwachs (ccm alk. KOH n/100)
K.bipht.-NaOH	4.46	0.01	4.52	0.03	4.53	0.04
„ „	5.07	0.03	5.10	0.04	5.11	0.04
„ „	5.58	0.03	5.61	0.03	5.58	0.03
„ „	5.93	0.02	6.00	0.05	5.97	0.05
„ „	6.47	0.04	6.52	0.04	6.48	0.03
KH ₂ PO ₄ -Na ₂ HPO ₄	7.23	0.05	7.31	0.04	7.29	0.05
„ „	7.86	0.03	7.88	0.06	7.83	0.06
Glycocoll-NaOH	8.31	0.06	8.36	0.05	8.34	0.05
„ „	8.73	0.06	8.81	0.03	8.76	0.06
„ „	9.22	0.07	9.25	0.06	9.19	0.05
„ „	10.12	0.07	10.10	0.07	10.08	0.06

Aus der Tabelle geht hervor, dass sich weder im Magensaft noch in den Extrakten der Mitteldarmdrüsen nennenswerte Autolyse nachweisen lässt. Von einem bestimmten Autolyse-Optimum ist also nicht die Rede (vgl. SHINODA, 1928).

C. Labwirkung.

Das Vorhandensein eines Labfermentes bei *Sepia officinalis* ist von J. SELLIER (1907) erwähnt worden. Mit reinem Magensaft von *Sepia* und *Loligo* konnte dieser Forscher keine Gerinnung frischer Kuhmilch hervorrufen, aber nach „Sensibilisierung“ der Milch mit Kohlensäure oder Calciumchlorid trat Gerinnung ein.

Mit Leberextrakten von *Sepia* und *Loligo* trat immer spontane Gerinnung ein.

Leberextrakt von *Eledone* soll nach COHNHEIM (1902) eine deutliche Labwirkung aufweisen, während BOURQUELOT (1882, 1885) das Vorhandensein eines Labfermentes bei *Octopus* verneint.

Eigene Untersuchungen:

Die Labwirkung wurde studiert nach der Methode von MICHAELIS und ROTHSTEIN (1920).

Leberextrakt, Temp. 21° C.

Röhrchen	ccm Extrakt	Labungszeit
1	1 ccm	3 Min. 50 Sek.
2	1/2 ccm	9 Min. 40 Sek.
3	1/4 ccm	24 Min.
4	1/8 ccm	56 Min.
5	1/16 ccm	99 Min.

Der Pankreasextrakt hat keine Labwirkung, denn nach 24 Stunden war im Röhrchen mit der höchsten Enzymkonzentration noch keine Gerinnung eingetreten. Kontrollversuche mit gekochtem Leberextrakt hatten negatives Ergebnis. Das Fehlen einer Labwirkung im Pankreasextrakt lässt sich vielleicht durch die Tatsache erklären, dass die Proteinase inaktiv ist.

Die biologische Bedeutung der Labwirkung ist nicht klar.

D. Karbohydrasen.

Die Kohlehydratverdauung bei Cephalopoden ist von mehreren Forschern studiert worden. Schon LÉON FREDERICQ (1878)

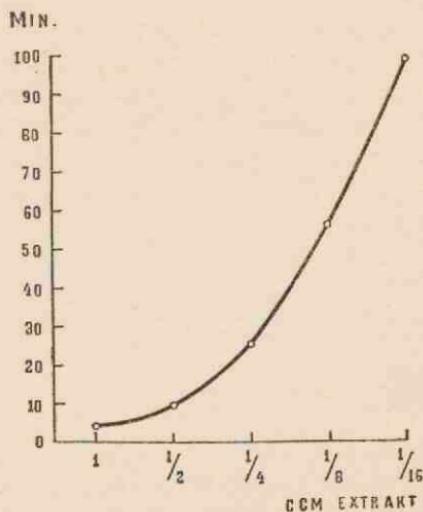


Abb. 10. Labwirkung des Leberextraktes von *Sepia officinalis*. Enzymkonzentration und Labungszeit.

erwähnt eine Stärkespaltung durch Leberextrakt von *Octopus vulgaris*, während JOUSSET DE BELLESME (1879) nach 24-stündiger Einwirkung eines aus den Leberausführungsgängen aufgefangenen Saftes auf rohe Stärke, keine Zuckerbildung konstatieren konnte (*Octopus vulgaris*).

KRUKENBERG (1882) fand den Magensaft von *Sepiolo*, *Sepia* und *Eledone* sehr gut diastatisch wirksam, gleichwie Mitteldarmdrüsenextrakte genannter Tierarten.

Auch VIGELIUS (1883) konnte in Alkoholextrakten der Leber von *Sepia*, *Sepiolo*, *Loligo*, *Octopus* und *Eledone* eine Diastase nachweisen.

Ausführliche Versuche stellte BOURQUELOT (1882, 1885) an bei *Sepia* und *Octopus*. Rohe Stärke wurde von den Mitteldarmdrüsenextrakten dieser Tiere gar nicht verdaut, wohl aber gebrühte Stärke (76–77° C.). Weiter ergab sich, dass weder Saccharose, noch Inulin, noch Salicin verdaut wurden.

Auch BOURQUELOT erwähnt schon, dass die Stärke- oder Glycogenspaltung nicht weiter als Maltose geht.

Auch VICTOR HENRY (1903) konnte bei *Octopus* und *Sepia* eine Amylase im Lebersafte nachweisen.

FALLOISE (1905–1906) schliesst sich den Angaben von BOURQUELOT an. Die Amylolyse wurde nach Hinzufügung von Darmextrakt nicht erhöht.

Nach P. KRÜGER (1929) soll der Magensaft von *Octopus* Saccharose spalten und Glyzerinextrakte von Trockenpulver der Octopusleber auch Maltose und zwar optimal bei pH 5.4. Das Optimum der Stärkespaltung durch Leberextrakte von *Sepia* fand sich bei pH 5.8. (Polarimetrische Methode, Phosphatpuffer).

Eigene Untersuchungen:

Versuche wurden angestellt mit *Sepia officinalis* (Magensaft, Mitteldarmdrüsenextrakte), *Loligo vulgaris* (Magensaft), *Eledone* (Extrakt des „Hepatopankreas“), während der gebildete Zucker nach BERTRAND-SCHOORL (1915) bestimmt wurde.

Folgende Substrate wurden gewählt:

Glycogen puriss. (Merck).

Amylum solubile (Kahlbaum).

Laktose puriss.

Maltose puriss.

Saccharose puriss.

A. *Sepia officinalis*.

1. Magensaft.

a. Verdauung von Stärke

10 ccm Stärkelösung 1%
 5 ccm Puffer 0.2 Mol.
 (K.bipht.-NaOH)
 1 ccm Magensaft
 Temp. 35° C., während 2 Stunden
 pH 6.14, pro Titration 10 ccm
 Blankowert: 13.27 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
 0.1 N
 Nach 2 St.: 11.64 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N
 Differenz: 1.63 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N

b. Verdauung von Glycogen

10 ccm Glycogenlösung 1%
 5 ccm Puffer 0.2 Mol.
 (KH PO_4 -NaOH)
 1 ccm Magensaft
 Temp. 24° C., während 17 Stunden
 pH 6.71, pro Titration 10 ccm
 Blankowert: 13.56 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
 0.1 N
 Nach 17 St.: 10.52 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N
 Differenz: 3.04 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N

Also Stärke und Glycogen werden vom Magensaft gut gespalten; eine Amylase ist also vorhanden und es fragt sich, ob sie aus der Leber oder aus dem Pankreas oder vielleicht aus beiden Drüsen stammt.

2. Leberextrakt:

a. Verdauung von Stärke

10 ccm Stärkelösung 1%
 5 ccm Puffer 0.2 Mol.
 (K.bipht.-NaOH)
 1 ccm Leberextrakt
 Temp. 20° C., während 19 Stunden
 pH 5.96, pro Titration 10 ccm
 Blankowert: 13.27 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
 0.1 N
 Nach 19 St.: 10.16 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N
 Differenz: 3.11 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N

b. Verdauung von Glycogen

10 ccm Glycogenlösung 1%
 5 ccm Puffer 0.2 Mol.
 (K.bipht.-NaOH)
 1 ccm Leberextrakt
 Temp. 24° C., während 18 Stunden
 pH 5.54, pro Titration 10 ccm
 Blankowert: 13.52 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
 0.1 N
 Nach 18 St.: 11.62 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N
 Differenz: 1.90 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N

3. Pankreasextrakt:

a. Verdauung von Stärke

10 ccm Stärkelösung 1%
 5 ccm Puffer 0.2 Mol.
 (KH_2PO_4 -NaOH)
 1 ccm Pankreasextrakt
 Temp. 20° C., während 18 Stunden
 pH 6.71, pro Titration 10 ccm
 Blankowert: 13.70 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
 0.1 N
 Nach 18 St.: 11.70 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N
 Differenz: 2.00 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N

b. Verdauung von Glycogen

10 ccm Glycogenlösung 1%
 5 ccm Puffer 0.2 Mol.
 (K.bipht.-NaOH)
 1 ccm Pankreasextrakt
 Temp. 24° C., während 17 Stunden
 pH 6.14, pro Titration 10 ccm
 Blankowert: 13.60 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
 0.1 N
 Nach 17 St.: 9.50 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N
 Differenz: 4.10 ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N

Stärke oder Glycogen werden also vom Leberextrakt wie vom Pankreasextrakt verdaut; das amylytische Ferment des Magensaftes stammt also aus den beiden Drüsen.

Verdauung von Disacchariden durch Magensaft.

1. Spaltung von Maltose:

10 ccm Maltoselösung 1%, 5 ccm Puffer 0.2 Mol., 1 ccm Magensaft. Temp. 24° C., während 17 Stunden, pro Titration 5 ccm.

<i>a.</i> Bei pH 5.96 (K.bipht.-NaOH)	<i>b.</i> Bei pH 7.48 (KH ₂ PO ₄ -NaOH)
Blankowert: 8.98 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Blankowert: 8.98 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N
Nach 17 St.: 8.97 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Nach 17 St.: 9.00 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N
Differenz: 0.01 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Differenz: —0.02 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N

Maltose wird also nicht verdaut; eine Maltase fehlt im Magensaft.

2. Spaltung von Saccharose:

10 ccm Saccharoselösung 1%, 5 ccm Puffer 0.2 Mol., 1 ccm Magensaft. Temp. 24° C., während 18 Stunden, pro Titration 10 ccm.

<i>a.</i> Bei pH 5.96 (K.bipht.-NaOH)	<i>b.</i> Bei pH 7.48 (KH ₂ PO ₄ -NaOH)
Blankowert: 14.03 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Blankowert: 14.03 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N
Nach 18 St.: 14.08 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Nach 18 St.: 14.01 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N
Differenz: —0.05 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Differenz: 0.02 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N

Kein Reduktionszuwachs; eine Saccharase fehlt also.

3. Spaltung von Laktose:

10 ccm Laktoselösung 1%, 5 ccm Puffer 0.2 Mol., 1 ccm Magensaft. Temp. 24° C., während 17 Stunden, pro Titration 5 ccm.

<i>a.</i> Bei pH 5.96 (K.bipht.-NaOH)	<i>b.</i> Bei pH 7.48 (KH ₂ PO ₄ -NaOH)
Blankowert: 7.42 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Blankowert: 7.42 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N
Nach 17 St.: 7.46 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Nach 17 St.: 7.50 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N
Differenz: —0.04 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Differenz: —0.08 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N

Auch eine Laktase fehlt im Magensaft.

Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass die einzige, sich im Magensaft findende Karbohydrase eine Amylase ist. Das Glycogen der Beute wird im Magen also nicht weiter als zu Maltose gespalten. Ausserdem gelang es, nach Einwirkung des Magensaftes auf Glycogen, mit der Phenylhydrazinprobe schöne Maltosazonkristalle zu bekommen und es liess sich keine Spur von Glukose nachweisen.

Es bestand immer noch die Möglichkeit, dass die im Magen

gebildete Maltose im Darne weiter gespalten werden würde. Es wurde daher an Glycerinextrakten aus der Darmwand untersucht, ob eine Maltase in der Darmwand vorkommt.

10 ccm Maltoselösung 1%, 5 ccm Puffer 0.2 Mol., 1 ccm Darmwandauszug. Temp. 24° C., während 18 Stunden, pro Titration 5 ccm.

a. Bei pH 5.96 (K.bipht.-NaOH)	b. Bei pH 7.48 (KH ₂ PO ₄ -NaOH)
Blankowert: 8.42 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Blankowert: 8.42 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N
Nach 18 St.: 8.38 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Nach 18 St.: 8.44 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N
Differenz: 0.04 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Differenz: —0.02 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N

Keine Reduktionszunahme, also auch in der Darmwand fehlt eine Maltase; die Glycogenspaltung im Darmkanal von Sepia geht nicht weiter als bis zur Bildung von Maltose.

B. *Loligo vulgaris*.

Magensaft.

1. Verdauung von Stärke:

10 ccm Stärkelösung 1%, 5 ccm Puffer 0.2 Mol., 1 ccm Magensaft. Temp. 22° C., während 6 Stunden, pro Titration 10 ccm.

a. Bei pH 6.14 (K.bipht.-NaOH)	b. Bei pH 7.80 (KH ₂ PO ₄ -NaOH)
Blankowert: 13.20 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Blankowert: 13.20 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N
Nach 6 St.: 9.42 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Nach 6 St.: 9.86 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N
Differenz: 3.78 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Differenz: 3.34 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N

Im Magensaft von *Loligo* kommt eine Amylase vor.

2. Verdauung von Maltose:

10 ccm Maltoselösung 1%, 5 ccm Puffer 0.2 Mol., 1 ccm Magensaft, Temp. 22° C., während 7 Stunden, pro Titration 5 ccm.

a. Bei pH 5.54 (K.bipht.-NaOH)	b. Bei pH 7.80 (KH ₂ PO ₄ -NaOH)
Blankowert: 7.92 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Blankowert: 7.92 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N
Nach 7 St.: 7.90 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Nach 7 St.: 7.91 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N
Differenz: 0.02 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Differenz: 0.01 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N

Keine Reduktionszunahme; im Magensaft von *Loligo* fehlt eine Maltase.

3. Verdauung von Saccharose:

10 ccm Saccharoselösung 1%, 5 ccm Puffer 0.2 Mol., 1 ccm Magensaft, Temp. 22° C., während 8 Stunden, pro Titration 5 ccm.

a. Bei pH 5.96 (K.bipht.-NaOH)	b. Bei pH 7.48 (KH ₂ PO ₄ -NaOH)
Blankowert: 13.22 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Blankowert: 13.22 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N
Nach 8 St.: 13.24 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Nach 8 St.: 13.20 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N
Differenz: —0.02 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Differenz: 0.02 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N

Keine Reduktionszunahme; auch eine Saccharase fehlt.

Der Magensaft von *Loligo* stimmt also in dieser Hinsicht mit dem Magensaft von *Sepia* überein; die einzige Karbohydrase ist eine Amylase.

C. *Eledone cirrhosa*.

Glyzerinauszug vom „Hepatopankreas“.

1. Verdauung von Stärke:

10 ccm Stärkelösung 1%, 5 ccm Puffer 0.2 Mol., 1 ccm Drüsenextrakt.
Temp. 25° C., während 16 Stunden, pro Titration 10 ccm.

a. Bei pH 5.96 (K.bipht.-NaOH)	b. Bei pH 7.48 (KH ₂ PO ₄ -NaOH)
Blankowert: 13.20 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Blankowert: 13.20 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N
Nach 16 St.: 7.34 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Nach 16 St.: 7.98 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N
Differenz: 5.86 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Differenz: 5.22 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N

Im Mitteldarmdrüsenextrakt von *Eledone* kommt eine Amylase vor.

2. Verdauung von Maltose:

10 ccm Maltoselösung 1%, 5 ccm Puffer 0.2 Mol., 1 ccm Drüsenextrakt.
Temp. 25° C., während 17 Stunden, pro Titration 5 ccm.

a. Bei pH 5.54 (K.bipht.-NaOH)	b. Bei pH 7.80 (KH ₂ PO ₄ -NaOH)
Blankowert: 8.07 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Blankowert: 8.07 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N
Nach 17 St.: 7.54 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Nach 17 St.: 7.62 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N
Differenz: 0.53 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Differenz: 0.45 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N

Deutliche Reduktionszunahme; es lässt sich also eine Maltase im Drüsenextrakt von *Eledone* nachweisen.

3. Verdauung von Saccharose:

10 ccm Saccharoselösung 1%, 5 ccm Puffer 0.2 Mol., 1 ccm Drüsenextrakt.
Temp. 25° C., während 16 Stunden, pro Titration 5 ccm.

Bei pH 7.10 (KH ₂ PO ₄ -NaOH).
Blankowert: 13.12 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N.
Nach 16 St.: 12.80 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N.
Differenz: 0.32 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N.

Auch eine Saccharase ist vorhanden.

4. Verdauung von Laktose:

10 ccm Laktoselösung 1%, 5 ccm Puffer 0.2 Mol., 1 ccm Drüsenextrakt.
Temp. 25° C., während 17 Stunden, pro Titration 5 ccm.

a. Bei pH 6.14 (K.bipht.-NaOH)	b. Bei pH 7.80 (KH ₂ PO ₄ -NaOH)
Blankowert: 6.45 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Blankowert: 6.45 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N
Nach 17 St.: 6.52 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Nach 17 St.: 6.42 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N
Differenz: —0.07 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N	Differenz: 0.03 ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N

Keine Reduktionszunahme; eine Laktase fehlt also.

Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass bei den verwendeten zehnamigen Cephalopoden (*Sepia*, *Loligo*) das einzige Kohlehydratspaltende Enzym eine Amylase ist, während sich bei einer achtarmigen Art (*Eledone*) neben Amylase auch Disaccharasen aufweisen lassen.

pH-Optima der Karbohydrasen.

Sepia officinalis. Verdauung von Stärke durch Magensaft.

Verdauungsgemisch: 10 ccm Stärkelösung 1%, 5 ccm Puffer 0.2 Mol., 1 ccm Magensaft. Temp. 20° C., während 18 Stunden, pro Titration 10 ccm.

Puffer	pH	Reduktionszunahme (ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N)
K.bipht.-NaOH	5.54	1.09
„ „	5.96	1.47
„ „	6.14	1.63
KH ₂ PO ₄ -NaOH	6.26	1.95
„ „	6.71	2.11
„ „	7.10	2.10
„ „	7.48	2.03
„ „	7.80	1.99

Siehe auch Abb. 11.

Das pH-Optimum für die Stärkespaltung durch Magensaft von *Sepia* ist breit und liegt zwischen pH 6.70 und pH 7.10, also bei neutraler Reaktion.

Verdauung von Stärke durch Pankreasextrakt.

Verdauungsgemisch: 10 ccm Stärkelösung, 5 ccm Puffer 0.2 Mol., 1 ccm Pankreasextrakt. Temp. 20° C., während 18 Stunden, pro Titration 10 ccm.

Puffer	pH	Reduktionszunahme (ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N)
K.bipht.-NaOH	5.54	1.52
„ „	5.96	1.64
„ „	6.14	1.76
KH ₂ PO ₄ -NaOH	6.26	1.88
„ „	6.71	2.00
„ „	7.10	1.80
„ „	7.48	1.72
„ „	7.80	1.48

Siehe Abb. 11.

Das pH-Optimum für die Stärkespaltung durch Pankreasextrakt liegt bei pH 6.71.

Verdauung von Stärke durch Leberextrakt.

Verdauungsgemisch: 10 ccm Stärkelösung 1%, 5 ccm Puffer 0.2 Mol., 1 ccm Leberextrakt. Temp. 20° C., während 19 Stunden, pro Titration 10 ccm.

Puffer	pH	Reduktionszunahme (ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N)
K.bipht.-NaOH	5.54	2.07
„ „	5.96	3.11
„ „	6.14	3.31
KH ₂ PO ₄ -NaOH	6.26	3.27
„ „	6.71	3.44
„ „	7.10	3.52
„ „	7.48	3.33
„ „	7.80	3.00

Siehe Abb. 11.

Das pH-Optimum für die Stärkespaltung durch Leberextrakt liegt bei pH 7.10.

Verdauung von Glycogen durch Magensaft.

Verdauungsgemisch: 10 ccm Glycogenlösung 1%, 5 ccm Puffer 0.2 Mol., 1 ccm Magensaft. Temp. 24° C., während 17 Stunden, pro Titration 10 ccm.

Puffer	pH	Reduktionszunahme (ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N)
K.bipht.-NaOH	5.54	2.04
„ „	5.96	2.44
„ „	6.14	2.78
KH ₂ PO ₄ -NaOH	6.26	2.90
„ „	6.71	3.04
„ „	7.10	3.06
„ „	7.48	2.75
„ „	7.80	2.39

Siehe Abb. 12.

Das pH-Optimum für die Glycogenspaltung durch Magensaft liegt bei pH 7.10.

Verdauung von Glycogen durch Leberextrakt.

Verdauungsgemisch: 10 ccm Glycogenlösung 1%, 5 ccm Puffer 0.2 Mol., 1 ccm Leberextrakt. Temp. 24° C., während 17 Stunden, pro Titration 10 ccm.

Puffer	pH	Reduktionszunahme (ccm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N)
K.bipht.-NaOH	5.54	1.90
" "	5.96	3.46
" "	6.14	3.66
KH_2PO_4 -NaOH	6.26	3.72
" "	6.71	3.44
" "	7.10	3.40
" "	7.48	3.11
" "	7.80	2.88

Siehe Abb. 12.

Das pH-Optimum für die Glycogenspaltung durch Leberextrakt liegt bei pH 6.26.

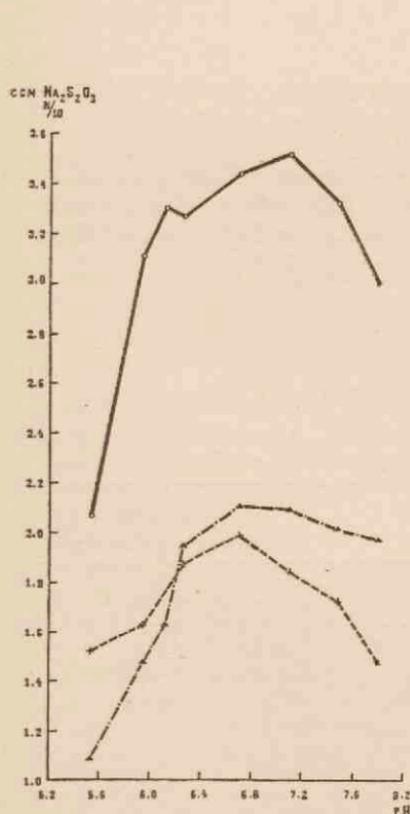


Abb. 11. *Sepia officinalis*. Spaltung von Stärke durch Magensaft (—▲—▲—), Leberextrakt (—○—○—) und Pankreasextrakt (—×—×—) und Wasserstoffzahl.



Abb. 12. *Sepia officinalis*. Verdauung von Glycogen durch Magensaft (—▲—▲—), Leberextrakt (—○—○—) und Pankreasextrakt (—×—×—) und Wasserstoffzahl.

Verdauung von Glycogen durch Pankreasextrakt.

Verdauungsgemisch: 10 ccm Glycogenlösung 1%, 5 ccm Puffer 0.2 Mol., 1 ccm Pankreasextrakt. Temp. 24° C., während 17 Stunden pro Titration 10 ccm.

Puffer	pH	Reduktionszunahme (ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N)
K.bipht.-NaOH	5.54	3.87
„ „	5.96	4.04
„ „	6.14	4.10
KH ₂ PO ₄ -NaOH	6.26	4.02
„ „	6.71	3.88
„ „	7.10	3.76
„ „	7.48	3.38
„ „	7.80	3.22

Siehe Abb. 12.

Das pH-Optimum für die Glycogenspaltung durch Pankreasextrakt liegt bei pH 6.14; also bei ziemlich saurer Reaktion.

Vergleichen wir Abb. 11 und 12 miteinander, so zeigt sich, dass die Stärke vom Leberextrakt besser gespalten wird als vom Pankreasextrakt, bei Glycogen aber liegen die Dinge umgekehrt. Dies würde auf einen qualitativen Unterschied zwischen Leber- und Pankreasamylase hinweisen können im Sinne einer β - und α -Amylase.

Loligo vulgaris. Verdauung von Stärke durch Magensaft.

Verdauungsgemisch: 10 ccm Stärkelösung 1%, 5 ccm Puffer 0.2 Mol., 1 ccm Magensaft. Temp. 22° C., während 17 Stunden, pro Titration 10 ccm.

Puffer	pH	Reduktionszunahme (ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N)
K.bipht.-NaOH	5.54	4.82
„ „	5.96	4.94
„ „	6.14	5.00
KH ₂ PO ₄ -NaOH	6.26	5.02
„ „	6.71	4.92
„ „	7.10	4.64
„ „	7.48	4.38
„ „	7.80	4.28

Siehe Abb. 13.

Das pH-Optimum für die Stärkespaltung durch Magensaft liegt bei pH 6.26.

Verdauung von Glycogen durch Magensaft:

Verdauungsgemisch: 10 ccm Glycogenlösung 1%, 5 ccm Puffer 0.2 Mol.,
1 ccm Magensaft. Temp. 22° C., während 18 Stunden, pro Titration 10 ccm.

Puffer	pH	Reduktionszunahme (ccm Na ₂ S ₂ O ₃ 0.1 N)
K.bipht.-NaOH	5.54	4.18
„ „	5.96	4.48
„ „	6.14	4.09
KH ₂ PO ₄ -NaOH	6.26	4.03
„ „	7.10	3.76
„ „	7.80	3.60

Siehe Abb. 13.

Das pH-Optimum für die Glycogenspaltung durch Magensaft liegt bei pH 5.96.

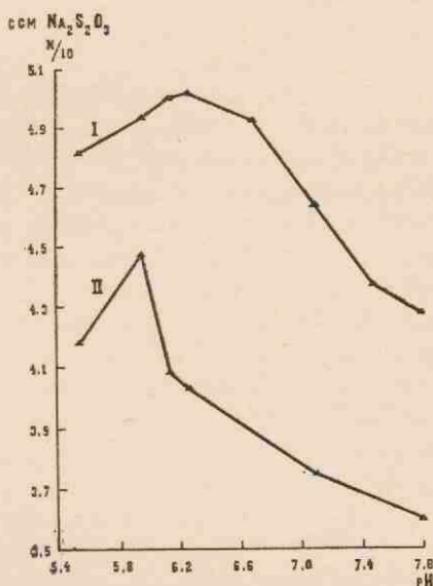


Abb. 13. *Loligo vulgaris*. Verdauung von Stärke (I) und Glycogen (II) durch Magensaft und Wasserstoffzahl.

Ähnliche Versuchsreihen wurden bei höherer Temperatur (35° C.) und kürzerer Versuchsdauer (2 Stunden) angestellt. Die Lage der pH-Optima änderte sich aber nicht.

ABSCHNITT IV.

SCHLUSSBETRACHTUNG, ZUSAMMENFASSUNG.

Bei *Sepia officinalis* wurden Glycerinextrakte der beiden Mitteldarmdrüsen (Leber und Pankreas) und der Vorderdarmdrüsen (Speicheldrüsen) angefertigt und der Magensaft einiger Tiere gesammelt. Von mehreren Exemplaren von *Loligo vulgaris* ist der Magensaft aufgefangen worden, ausserdem wurde die ganze Mitteldarmdrüse („Hepatopankreas“) eines Exemplares von *Eledone cirrhosa* extrahiert. Der Speicheldrüsenextrakt enthält keine Verdauungsenzyme; eine bedeutungsvolle Rolle dürften diese Drüsen spielen beim schnellen Töten der gefangenen Beute, was durch die Einspritzung von Meerwasserextrakten bei verschiedenen Tieren bewiesen wurde.

Die Reaktion des Magensaftes von *Sepia officinalis* wechselt von schwach sauer bis neutral und stimmt hierin mit dem Magensaft vieler Wirbelloser überein.

In den Mitteldarmdrüsenextrakten und im Magensaft lässt sich Lipasewirkung nachweisen; höhere Fette werden weniger gut als einfache Ester gespalten. Bis zu einem Spaltungsgrad von 50 % verläuft die Tributyrinspaltung der Zeit proportional. Das pH-Optimum der Leberlipase liegt bei pH 6.02, dasjenige der Pankreaslipase bei pH 6.35. Das Enzym liess sich nicht mit $MgCl_2$ aktivieren. Diese Resultate stimmen mit den von KRIJGSMAN (1928) bei *Helix* gefundenen überein.

Der Leberauszug verdaut natives Eiweiss, Pepton, Chloracetyl-l-tyrosin, Leucyldiglycin und Glycylglycin. Der Rohextrakt liess sich nicht mit H_2S , Glutathion, Enterokinase oder einem Auszug irgend eines Darmteiles von *Sepia* aktivieren. Die pH-Optima sind: für Casein pH 6.1, für Gelatine pH 5.6, für Pepton pH 6.1, für Chloracetyl-l-tyrosin pH 5.5, für Leucyldiglycin pH 8.3 und für Glycylglycin pH 8.2.

Der Rohextrakt des Pankreas spaltet kein Casein, Pepton und Chloracetyl-l-tyrosin, wohl aber Leucyldiglycin und Glycylglycin. Nach Aktivierung mit Enterokinase oder einem Auszug der Coocumwand wurden aber Casein, Pepton und Chloracetyl-l-tyrosin gut gespalten. Das pH-Optimum der Leucyldiglycyl-

glycinspaltung liegt bei pH 7.7, dasjenige der Glycylglycinspaltung bei pH 7.8. ¹⁾

Vom Magensaft wurde Casein optimal verdaut bei pH 6.8, Gelatine bei pH 5.6 und Pepton bei pH 6.2. Auch die erwähnten Peptide wurden vom Magensaft verdaut. Die bei *Sepia* vorhandene Kinase ist ausserdem zur Aktivierung der Wirbeltierproteinase imstande.

Die Lage der pH-Optima der Proteinase passt gut zur natürlichen Reaktion des Magensaftes, da ja die pH-Optima für die Casein- und Gelatinespaltung mit dem pH des Magensaftes übereinstimmen. Da ausserdem die Optima beider flach sind, ergibt sich eine relativ grosse Unempfindlichkeit des Enzyms pH-Änderungen gegenüber.

Die pH-Optima der Peptidasen liegen bei alkalischer Reaktion; ausserdem verlaufen die pH-Kurven steil; das sind also Faktoren, welche die Peptidverdauung im Magen zu verzögern geeignet sind. Eine solche Verzögerung der Bildung von Endprodukten finden wir bei andern Tieren öfters; man kann darin einen Schutz gegen Überschwemmung des Organismus mit solchen Endprodukten sehen. Allerdings ist dies reine Mutmassung; selbst die Tatsache, dass durch die pH-Ansprüche der betreffenden Enzyme ihre Wirkung verzögert wird, steht nicht unumstösslich fest; es könnten unbekannte Faktoren gegeben sein, welche das Fehlen eines passenden pH in der Umgebung kompensieren (siehe VONK und WOLVEKAMP, 1929).

Dem Leberextrakt und dem Magensaft kommt Labwirkung zu, nicht dem Pankreasextrakt.

Bei den geprüften zehnnarmigen Cephalopoden (*Sepia*, *Loligo*) ist die einzige vorhandene Karbohydrase eine Amylase. Bei *Eledone cirrhosa* gibt es neben Amylase auch Maltase und Saccharase.

Bemerkenswert ist, dass Leberextrakt relativ mehr Stärke, Pankreassaft dahingegen relativ mehr Glycogen spaltet.

Die pH-Optima für die Stärkeverdauung durch Magensaft, Leberextrakt und Pankreasextrakt liegen bei neutraler Reaktion. (pH 6.7–pH 7.0).

Für die Glycogenverdauung sind die pH-Optima pH 7.10

¹⁾ Die Bedeutung dieser späten Aktivierung der Pankreas-Proteinase und Carboxypolypeptidase ist mir unbekannt. Ebensowenig ist anzugeben, warum die Leberenzyme sich in dieser Hinsicht anders verhalten.

(Magensaft), pH 6.26 (Leberextrakt) und pH 6.14 (Pankreasextrakt).

Diese Optima stimmen etwa mit der Reaktion im Magen überein.

LITERATURVERZEICHNIS.

- BAGLIONI, S., 1909. Zeitschr. Biol. **52**, 130.
 ———, 1909. Zentralbl. Physiol. **22**, 719.
 BAUER, V., 1909. Mitt. zool. Station Neapel. **19**, 149.
 BERT, P., 1867. C. R. Acad. Sc. Paris. **T 65**, 300.
 BEUTLER, R., 1924. Z. vergl. Physiol. **1**, 1.
 BOURQUELET, E., 1822. Arch. Zool. Exp. **T 10**, 385.
 ———, 1885. Arch. Zool. Exp. (2) **T 3**, 1.
 ———, 1882. C. R. Acad. Sc. Paris. **T 95**, 1174.
 COHNHEIM, O., 1902. Hoppe-Seylers Z. **35**, 396.
 FALLOISE, A., 1902. Arch. intern. Physiol. **3**, 282.
 FREDERICQ, L., 1878. Arch. Zool. Exp. **7**, 578.
 GRASSMANN, W., 1929. Hoppe-Seylers Z. **183**.
 ———, DIJKERHOFF, H. und EIBELER, H., 1930. Hoppe-Seylers Z. **189**, 112.
 ———, DIJKERHOFF, H. und SCHOENEBECK, O., 1930. Hoppe-Seylers Z. **186**, 183.
 GRIFFITHS, A. B., 1888. Proc. Royal Soc. London. **44**, 327.
 GRIMPE, G., Wiss. Meeresuntersuchungen. Abt. Helgoland. **16**.
 HENRY, V., 1903. R. C. Soc. Biol. Paris **55**, 1316.
 HENZE, M., 1905. Hoppe-Seylers Z. **43**, 477.
 ———, 1906. Zentralbl. Physiol. **19**, 986.
 ———, 1901. Hoppe-Seylers Z. **33**, 417.
 HYDE, I. H., 1897. Zeitschr. Biol. **35**, 459.
 ISGROVE, A., Elcdone, Liverpool Series **18**.
 JORDAN, H. J., 1913. Vergleichende Physiologie wirbelloser Tiere. 1. Ernährung. Jena.
 ———, 1929. Allgemeine vergleichende Physiologie der Tiere. Berlin.
 ——— und HIRSCH, G. Chr., 1927. Handb. norm. u. path. Physiol. **3**, 24.
 JOUSSET DE BELLESME, M., 1879. C. R. Acad. Sc. Paris. **88**, 304.
 KEFERSTEIN, H., Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreichs. **3**, 1307.
 KLINKENBERG, G. A. VAN, 1931. Diss. Utrecht.
 KOLLMANN, K., 1876. Z. wiss. Zool. **26**, 1.
 KRAUSE, R., Sitz. ber. Akad. Wiss. Berlin. Jahrg. 1897, 1085.
 ———, 1895. Zentralbl. Physiol. **9**, 273.
 KRIJGSMAN, B. J., 1928. Z. Vergl. Physiol. **8**, 187.
 KRÜGER, P., Sitz. ber. Akad. Wiss. Berlin. Jahrg. 1929, 548.
 ———, 1933. Ergebn. Physiol. **35**, 538.
 KRUKENBERG, C. Fr. W., 1882. Unters. physiol. Inst. Heidelberg. **2**, 1.
 LANGENBECK, W., 1933. Ergebn. Physiol. **35**, 470.
 LIVON, CH. u. BRIOT, A., 1906. Journ. Phys. Path. gen. **8**, 1.
 ———, 1905. C. R. Soc. Biol. Paris, **58**, 384, 386, 878.

- MANSOUR-BEK, J. J., 1930. Proc. kon. Akad. Wetensch. Amsterdam, **33**, 858.
 ———, 1932. Z. vergl. Physiol. **17**, 153.
 ———, 1933. Z. vergl. Physiol. **20**, 343.
 MEYER, W. TH., Tintenfische, in Monographieën einheimischer Tiere.
 MICHAELIS, L. u. ROTHSTEIN, P., 1920. P. Biochem. Z. **105**.
 RAWITZ, B., 1892. Arch. f. mikrosk. Anat. **39**, 596.
 RONA, P. u. MICHAËLIS, L., 1911. Biochem. Z. **31**, 345.
 RONA, P., 1926. Praktikum der physiologischen Chemie. 1. Fermentmethoden. Berlin.
 ROSÉN, B., 1932. Zool. Bidr. Uppsala. **14**.
 SCHMIDT, O., 1893. Brehm's Tierleben. **10**, 255.
 SCHOORL., 1915–1916. Chem. Jahrb.
 SELLIER, J., 1907. C. R. Soc. Biol. Paris. **63**, 705.
 SLYKE, D. D. VAN. Abderhaldens Handb. der biol. Arb. Meth. Abt. I, Teil **7**, S. 263.
 SÖRENSEN, S. P. L. 1912. Ergebn. Physiol. **12**, 293.
 TESCH, J. J., 1908. Bijdragen tot de fauna der Zuidelijke Noordzee, III, Cephalopoda. Jaarboek v. h. Rijksinstituut voor onderzoek der Zee.
 ULLMANN, T., 1932. Z. vergl. Physiol. **17**, 520.
 VIGELIUS, W. J., 1883. Verh. kon. Akad. Wetensch. Amsterdam. **22**, 1.
 VIGIER, P., 1905. C. R. Soc. Biol. Paris. **58**, 384.
 VONK, H. J., 1929. Z. vergl. Physiol. **9**, 685.
 VONK, H. J. u. WOLVEKAMP, H. P. 1929. Hoppe-Seylers Z. **182**.
 WALDSCHMIDT-LEITZ, E., 1923. Hoppe-Seylers Z. **132**, 181.
 ———, SCHARIKOVA, A. u. SCHÄFFNER, A., 1933. Hoppe-Seylers Z. **214**, 75.
 WIERSMA, C. A. G. u. VEEN, R. VAN DER, 1928. Z. vergl. Physiol. **7**, 269.
 WILLSTÄTTER, R. Naturwiss. Jahrg. 1926, 937.
 ———, u. WALDSCHMIDT-LEITZ, E., 1924. Hoppe-Seylers Z. **134**, 161.
 ———, u. WALDSCHMIDT-LEITZ, E., 1921. Ber. Deutsch. chem. Ges. **54**, 2988.

STELLINGEN.

I.

De amylasen uit de beide middendarmklieren van *Sepia officinalis* zijn niet identiek.

II.

De in het darmkanaal van *Sepia officinalis* voorkomende kinase is identiek met de enterokinase uit de Vertebratendarm.

III.

Bij de beoordeling van de functie van de haemoglobine van dieren die bij lage zuurstofspanning leven, dienen de proefresultaten, verkregen na uitschakeling van het bloedpigment door koolmonoxydevergiftiging, met betrekking tot het zuurstofverbruik met grote voorzichtigheid geïnterpreteerd te worden.

IV.

De opvatting van Z. M. BACQ, dat het Tunicatenhart niet sympatisch geïnnerveerd wordt, is onvoldoende door experimenten gesteund.

Arch. int. Physiol. **40**, 357, 1935.

V.

De door SMITH en HEINBECKER beschreven methode ter verkrijging van alveolairlucht van de hond is niet betrouwbaar.

Amer. J. Physiol. **84**, 271, 1928.

VI.

De proeven van Mc. CARTHY bewijzen niet, dat de verschillen in affiniteit voor zuurstof tussen moederlijk en foetaal bloed van de geit te wijten zijn aan een kwalitatief verschil der haemoglobinen.

J. Physiol. **80**, 206, 1934.

VII.

Uit de onderzoeken van J. DE ZEEUW mag niet geconcludeerd worden, dat door de kliercellen in de bekers der *Nepenthes*-soorten geen tryptische proteinase afgescheiden wordt.

Biochem. Z. 269, 187, 1934.

VIII.

De overeenkomst, die er tussen enkele vertegenwoordigers der Noord- en Zuidpoolfauna bestaat, is niet het gevolg van een genetische samenhang van die soorten.

IX.

Het is noodzakelijk, dat Zoöphysiologen over een grote soortenkennis beschikken.



U
19