

Zur Kenntnis der Pankreaslipase.

Von

Ant. Hamsik.

(Aus dem mediz.-chem. Institute der k. k. böhm. Universität in Prag.)

(Der Redaktion zugegangen am 19. Februar 1911.)

I. Darstellung von klaren Lipaseextrakten.

Von vielen Autoren wurde die Unlöslichkeit des fettspaltenden Fermentes des Pankreas beobachtet und hervorgehoben (cf. W. Connstein,¹⁾ H. Pottevin,²⁾ A. Kanitz,³⁾ W. Dietz,⁴⁾ O. Rosenheim und J. A. Shaw-Mackenzie⁵⁾). Diejenigen, welche wirksame Extrakte erhalten haben, geben an, daß nach Filtration dieser Extrakte durch unglasierte Tonzellen die fettspaltenden Eigenschaften fast vollständig verloren gehen (A. Kanitz l. c., W. Dietz l. c., A. Juschtschenko.⁵⁾)

Zur Kontrolle wurden 2 Serien von je 5 frischen Schweinepankreasdrüsen fein zerkleinert und je die eine Hälfte mit etwa 5facher Menge Glycerin, die andere mit Alkohol und Äther behandelt (Trockenpankreas).

A. Die eine der 2 Glycerinsuspensionen wurde nach 14 Tagen durch ein grobes Leintuch koliert, das trübe Kolat durch ein Papierfilter wiederholt filtriert, bis ein klares Filtrat erhalten wurde. Alsdann gelangten 1. die durch das Leintuch kolierete Suspension, 2. das erste, 3. das wiederholt durch das Papier filtrierte, klare Filtrat, 4. der wieder in entsprechender Menge Glycerin suspendierte Filterrückstand auf ihre lipolytische und zugleich liposynthetische Kraft zur Prüfung. Die andere der 2 Glycerinsuspensionen kam erst nach 4 Monaten auf dieselbe Weise zur Untersuchung.

¹⁾ Ergebn. d. Physiol., Bd. III, S. 206, 1904.

²⁾ Ann. Inst. Pasteur, Bd. XX, S. 901, 1906.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLVI, S. 482, 1905.

⁴⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LII, S. 279, 1907.

⁵⁾ Journ. of Physiol., Bd. XL, 1910.

⁵⁾ Biochem. Zeitschr., Bd. XXV, S. 49, 1910.

1. Fettspaltung. 5 ccm käuflichen Olivenöls wurden mit 0,5 ccm $n/_{10}$ -NaOH, dann mit 5 ccm Wasser bezw. einer 1%igen Lösung der Plattnerschen Galle und schließlich mit 5 ccm der zu prüfenden Substanz vermischt. Nach tüchtigem Durchschütteln kamen die Kölbchen auf 6 Stunden in den Thermostaten bei 37°. Die Acidität der Proben wurde teils sofort, teils nach 6 Stunden durch Titration mit wässriger $n/_{10}$ -NaOH nach Zusatz von 50 ccm Alkohol und 1 Tropfen 1%iger Phenolphthaleinlösung bestimmt.

Tabelle I.

	Säurevermehrung in ccm $n/_{10}$ -NaOH			
	Pankreas I		Pankreas II	
	ohne Galle	mit Galle	ohne Galle	mit Galle
Suspension . .	10,9	21,7	14,2	16,3
Erstes Filtrat .	7,4	18,0	—	—
Klares Filtrat .	6,9	14,5	0,1	0,3
Filtrerrückstand .	14,2	32,5	13,8	31,2

2. Fettsynthese. 5 ccm Ölsäure wurden mit 10 ccm der Glycerinsuspension resp. des Filtrates vermischt und in den Thermostaten (Temperatur während des Tags = 37°) gestellt. Zu Beginn des Versuches sowie weiterhin in gewissen Zeitabständen wurde eine Probe von 2 ccm nach gründlichem Durchschütteln entnommen und die Acidität nach Zusatz von 20 ccm Alkohol und 1 Tropfen Phenolphthaleinlösung ermittelt. Die in der Tabelle II angegebene Säureverminderung bezieht sich auf 2 ccm des Gemisches.

Tabelle II.

	Säureverminderung in ccm $n/_{10}$ -NaOH			
	Pankreas I		Pankreas II	
	nach 36 Std.	nach 8 Tagen	nach 36 Std.	nach 8 Tagen
Suspension . .	9,4	11,1	10,3	—
Klares Filtrat .	—	3,5	—	0
Filtrerrückstand .	9,2	13,2	—	7,1

Beide Pankreassuspensionen waren also von bedeutender lipolytischer und synthetischer Kraft. Während aber das klare Filtrat der I. Suspension deutliche lipolytische und liposynthetische Eigenschaften zeigte, war der nach 4 Monaten abfiltrierte Extrakt der II. Suspension unwirksam. In beiden Fällen erwies sich der Filtrerrückstand sehr wirksam.

Die gleichzeitig mit der Darmlipase angestellten Versuche ergaben, daß die abgeschabte und direkt in Glycerin suspendierte Dünndarmschleimhaut vom Schwein die Fettsynthese zu bewirken vermag, während das Filtrat von dieser Suspension unwirksam ist. 10 ccm der Glycerinsuspension (Nr. 1) resp. des Filtrates (Nr. 2) wurden mit 5 ccm Ölsäure vermischt und, wie bereits angegeben, geprüft.

Nr.	Acidität von 2 ccm des Gemisches in n_{10} -KOH		
	sofort	nach 8 Tagen	nach 15 Tagen
1	19,1	17,7	16,9
2	19,4	19,4	19,4

Selbst bei Benützung der Suspension ist die Synthese nur unbedeutend, da mit der Schleimhaut viel Wasser in die Reaktion kam.

B. Weit besser und konstant können klare Lipaseextrakte aus dem Trockenpankreas dargestellt werden.

a) Glycerinextrakte. Das Pankreaspulver (I. oder II. Serie) wurde mit Glycerin im Verhältnis von 1 g : 100 ccm $\frac{1}{2}$ Stunde bis 3 Tage behandelt und dann durch Papier wiederholt filtriert. Das klare Filtrat wurde noch durch die Chamberlandkerze filtriert und in 3 Portionen nacheinander aufgefangen. Der Untersuchung wurde 1. das wiederholt durch das Papier filtrierte, klare Filtrat, 2. die erste, 3. die zweite, 4. die dritte Portion der durch die Chamberlandkerze filtrierten Enzymlösung unterzogen.

1. Fettspaltung. 5 ccm Ölemulsion (die durch Neutralisieren 100 ccm käuflichen Olivenöls mit 30 ccm n_{10} -NaOH hergestellt wurde), 5 ccm Glycerinextrakt, 5 ccm 1%iger Lösung der Plattnerschen Galle.

Acidität nach 20 Stunden: 1. 34,1 ccm, 2. 2,0 ccm, 3. 11,5 ccm, 4. 32,5 ccm n_{10} -NaOH.

2. Fettsynthese. 10 ccm Glycerinextrakt, 5 ccm Ölsäure, 1 ccm Wasser. In der Tabelle III ist die Acidität von 2 ccm dieser Mischung in Kubikzentimetern n_{10} -NaOH angegeben.

Tabelle III.

	Acidität			
	sofort	nach 1 Tag	nach 6 Tagen	nach 12 Tagen
1	19,1	16,6	12,5	12,2
2	19,0	19,0	19,0	18,7
3	19,1	18,9	18,7	18,6
4	19,1	17,2	15,0	14,5

Die Lipase passiert also das Chamberlandfilter (Nr. 4), wird aber anfangs (Nr. 2) größtenteils zurückgehalten. Wurde eine klare Lösung durch das Papier wiederholt filtriert, so konnte keine Abnahme der lipolytischen Kraft konstatiert werden. Mit der Zeit wird die Lösung trübe. Filtriert man dieselbe, so hat das Filtrat seine Wirkung nicht verloren.

Von dem mit Wasser verdünnten Glycerin wird die Lipase aus dem Trockenpankreas kaum extrahiert. 1 g des Pankreaspulvers wurde mit 150 ccm 33%igen Glycerins vermischt. Nach 14 Tagen gelangte 1. die Suspension, 2. das klare Filtrat, 3. der in 33%igen Glycerin suspendierte Filtrerrückstand zur Untersuchung. Es wurden Proben von 5 ccm Olivenöls, 0,5 ccm n_{10} -NaOH, 10 ccm Glycerinsuspension resp. des Filtrates angesetzt. Nach 6 Stunden ergaben sie folgende Säurevermehrung: 1. a) bloße Suspension: 7,0 ccm, b) dieselbe mit noch 1 ccm 10%iger Lösung Plattnerscher Galle 23,1 ccm, 2. a) bloßes Filtrat 0,6 ccm, b) dasselbe mit der Galle 3,3 ccm, 3. a) bloßer Filtrerrückstand 7,9 ccm, b) derselbe mit der Galle 33,0 ccm n_{10} -NaOH.

Von Amylalkohol wird die Lipase aus dem Trockenpankreas nicht extrahiert, wie erwartet werden mußte. 1 g des Pankreaspulvers wurde mit 100 ccm Isoamylalkohol während 48 Stunden behandelt. 10 ccm dieser Suspension (Nr. 1, 3), resp. des klaren Filtrates (Nr. 2, 4) wurden mit 1 ccm der Buttersäure (Nr. 1, 2)

resp. mit 5 ccm der Ölsäure (Nr. 3, 4) zusammengebracht und in der schon angegebenen Weise untersucht.

	Acidität von 2 ccm der Probe in $n/_{10}$ -KOH	
	sofort	nach 6 Tagen
1	18,7	14,2
2	18,7	18,4
3	19,8	13,5
4	19,6	19,2

b) Wasserextrakte. Aus dem Trockenpankreas geht die Lipase nur teilweise in destilliertes Wasser über. Es wurden zwei Proben, die eine bloß mit destilliertem Wasser (1 g des Pankreaspulvers : 100 ccm Wasser), die andere mit Wasser und Toluol angestellt. Nach 1 Stunde wurde durch das Papier wiederholt filtriert und das klare, kaum merklich opalescente Filtrat sogleich geprüft. Jedes Kölbchen enthielt: 5 ccm Olivenöl, 0,5 ccm $n/_{10}$ -NaOH, 5 ccm der Enzymlösung, 5 ccm Glycerin. Säurevermehrung nach 6 Stunden: 1. bloßes Filtrat 9,7 ccm, 2. dasselbe mit noch 1 ccm 10%iger Lösung Plattnerscher Galle 35,4 ccm, 3. dasselbe ohne Ölemulsion 0,4 ccm $n/_{10}$ -NaOH.

Die unter Zusatz von Toluol hergestellte wässrige Enzymlösung wurde auf dieselbe Weise, jedoch ohne Glycerin, geprüft. Säurevermehrung nach 6 Stunden: ohne Galle 0,8 ccm, mit der Galle 15,6 ccm, nach 24 Stunden: ohne Galle 1,3 ccm, mit der Galle 30,6 ccm, ohne Ölemulsion 0,2 ccm $n/_{10}$ -NaOH.

Diese Enzymlösung wurde durch die Chamberlandsche Kerze filtriert und das Filtrat wie oben (ohne Glycerin und mit Toluol) geprüft. Säurevermehrung nach 6 Stunden bei Verwendung a) der ersten Hälfte des Filtrates: ohne Galle 0,7 ccm, mit Galle 9,4 ccm, b) der zweiten Hälfte: ohne Galle 0,7 ccm, mit Galle 17,4 ccm $n/_{10}$ -NaOH.

Der nach der Extraktion mit Wasser verbleibende Rückstand war noch stark wirksam. Daß die Lipase vom Wasser nur wenig extrahiert wird, kann aus der geringen liposynthetischen Kraft geschlossen werden. Die durch das Papier wiederholt filtrierte Lösung wurde im Vakuum getrocknet, was mehrere Tage erforderte; der verbleibende Rückstand wurde in Glycerin (0,25 g : 25 ccm) gelöst und die Lösung noch einmal filtriert.

10 ccm dieser Lösung wurden mit 5 ccm Ölsäure und 1 ccm Wasser (A), bzw. 1 ccm 10%iger Lösung der Plattnerschen Galle (B) vermischt. Dann wurden 2 ccm der Mischung entnommen und auf ihre Acidität geprüft. Die Acidität ist in Kubikzentimetern $n/_{10}$ -KOH angegeben.

	sofort	nach 1 Tag	nach 4 Tagen	nach 10 Tagen
A	18,8	18,7	18,3	18,3
B	18,6	18,3	17,0	16,2

II. Versuche zur Synthese der Palmitin- und Stearinsäure mit Glycerin durch die Pankreaslipase.

Nach H. Pottevin (l. c.) synthetisiert sich die Stearinsäure mit Amylalkohol unter Einwirkung der Pankreaslipase. A. E. Taylor (Ref. Chem. Zentralbl., Bd. LXXVII, II, S. 1344, 1906) konnte die Synthese der Palmitin- und Stearinsäure mit Glycerin durch das Rindtrockenpankreas nicht erzielen, während sie durch die Ricinuslipase gut gelang. Da diese Synthese in der Darmwand unzweifelhaft stattfindet, schien es doch wünschenswert, sie auch in vitro nachzuahmen.

1. Versuche mit der Palmitinsäure.

Zu den Versuchen wurde die Palmitinsäure von Kahlbaum in Berlin benützt; ihre Acidität entsprach der theoretisch verlangten.

Versuchsordnung. Die Kölbchen wurden zuerst mit (genau abgewogenen) ca. 0,5 g Palmitinsäure, dann mit 5 bis 10 ccm Glycerin bzw. Glycerinlipaseextrakt und 0,1—0,2 g Pankreaspulver vom Schwein beschickt. Die Acidität wurde teils sofort, teils nachdem die Proben 3—10 Tage im Thermostaten ($T. = 37^{\circ}$ während des Tages) verweilt hatten, durch Titration mit wässriger $n/_{10}$ -NaOH mit Phenolphthalein als Indikator nach vorherigem Auflösen in 100 ccm Alkohol unter Erwärmen bestimmt. In der Tabelle IV ist die Acidität auf 1 g der Palmitinsäure berechnet angegeben.

Tabelle IV.

Nr.	Glycerin ccm	Extrakt ccm	Pankreas- pulver g	Acidität in ccm n_{10} -NaOH		
				sofort	nach 3 Tagen	nach 10 Tagen
1	10	—	—	39,4	—	—
2	10	—	0,1	—	—	35,2
3	10	—	0,2	—	—	34,4
4	5	—	0,1	—	—	33,0
5	5	—	0,2	—	—	31,6
6	—	10	—	—	34,9	—
7	—	10	—	—	—	29,6
8	10	Toluol 10	0,1	—	20,5	—

Die aus der Tabelle IV ersichtliche Säureverminderung ist als Synthese der Palmitinsäure mit Glycerin aufzufassen.

2. Versuche mit der Stearinsäure.

Zur Verwendung gelangte die Stearinsäure von Kahlbaum, deren Acidität der theoretischen entsprach. Versuchsanordnung war die bei der Palmitinsäure beschriebene, nur daß hier ca. 1 g der Säure (genau abgewogen) und in einigen Versuchen auch Isoamylalkohol und Toluol zur Verwendung kamen.

Der Tabelle V ist zu entnehmen, daß in den Versuchen, wo nur Stearinsäure mit Glycerin zusammengebracht worden war (Nr. 2—4), die durch die Lipase bewirkte Säureverminderung nur gering ist; bei Verwendung von einer größeren Menge des Pankreaspulvers wird die Synthese nicht besser. Da die Esterifikation der Stearinsäure mit Isoamylalkohol durch dasselbe Pankreaspulver sehr gut von statten ging (Nr. 5—6) und der Zusatz von Glycerin sich als störend erwies (Nr. 7—8), wurde die Stearinsäure durch Zusatz von Toluol gelöst. Tatsächlich konnte dann eine große Säureverminderung konstatiert werden (Nr. 9—10); da Kontrollversuche mit Stearinsäure und Toluol ohne Glycerin keine Aciditätsänderung ergaben (Nr. 11 bis 12), kann die eben erwähnte Säureverminderung der durch die Lipase bewirkten Synthese zugeschrieben werden. Unter

Beibehaltung dieser Versuchsanordnung konnte auch bei Verwendung von Schweinsdarmlipase eine zwar kleine, jedoch unzweifelhafte Säureverminderung konstatiert werden (Nr. 15).

Tabelle V.

Nr.	Glycerin ccm	Extrakt ccm	Amyl- alkohol ccm	Toluol ccm	Pankreas- pulver g	Acidität in ccm $n/10$ -NaOH	
						sofort	nach 10 Tagen
1	—	—	—	—	—	35,2	—
2	10	—	—	—	0,1	35,7	34,3
3	5	—	—	—	0,1	—	33,7
4	—	10	—	—	—	35,9	34,7
5	—	—	10	—	0,1	35,7	16,4
6	—	—	10	—	0,2	—	4,7
7	10	—	10	—	0,1	—	34,0
8	—	5	5	—	—	—	35,1
9	10	—	—	10	0,1	—	13,4
10	5	—	—	5	0,1	—	7,4
11	—	—	—	10	0,1	—	36,2
12	—	—	—	5	0,1	—	36,2
13	—	10	—	10	—	—	35,8
14	—	5	—	2,5	—	—	34,6
15	10	—	—	10	Schweinsdarm- schleimhautpulver 0,2	—	33,6

Es ist zu bemerken, daß der Lipaseglycerinextrakt, der die Ölsäure mit Glycerin gut esterifizierte, bei Verwendung von Stearinsäure (Nr. 14) nur schwach wirksam war, namentlich im Vergleich mit der Wirkung des Pankreaspulvers (Nr. 9). Nebenbei sei noch erwähnt, daß die Synthese der Buttersäure mit Amylalkohol durch das Pankreaspulver glatt erzielt werden konnte, während sie mit Glycerin nur gering war. Dagegen verband sich die Ölsäure gut mit Glycerin, fast nicht aber mit Äthylenglykol und Propylenglykol.

III. Wirkung der Elektrolyten auf die Fettspaltung und Fettsynthese.

Nach H. Pottevin (C. r., Bd. CXXXVI, S. 767, 1903) wird die durch die Pankreasextrakte bewirkte Lipolyse durch Hinzufügen von anorganischen Salzen, insbesondere CaCl_2 , bedeutend befördert. Den fördernden Einfluß des Calciumchlorids hat auch A. Kanitz (Diese Zeitschr., Bd. XLVI, S. 482, 1905) beobachtet. Nach E. F. Terroine (Bioch. Zeitschr., Bd. XXIII, S. 430, 1910), der mit Pankreassaft experimentierte, wirken alle neutralen Salze in ähnlicher Weise: gewisse Konzentrationen beschleunigen, andere verlangsamen; die einzige Verschiedenheit besteht in der Lage der optimalen Konzentration. Die Kalksalze üben fast keine beschleunigende Wirkung aus.

Die eben anzuführenden Versuche hatten den Zweck, den Einfluß einiger Salze (hauptsächlich NaCl und CaCl_2) auf die Fettspaltung und Fettsynthese zugleich zu verfolgen.

Alle Versuche wurden mit klarem Glycerinextrakte aus Schweintrockenpankreas ausgeführt; in einer Reihe gelangte auch der durch die Chamberland-Kerze filtrierte Glycerinextrakt zur Verwendung.

A. Versuche ohne Seife.

1. Fettspaltung. Alle Proben enthielten 5 ccm neutralen Olivenöls, 5 ccm Wasser resp. der Salzlösung und 5 ccm Glycerinextrakt. Nach gründlichem Durchschütteln kamen die Proben auf 6—24 Stunden in den Thermostaten ($T. = 37^\circ$). Den zu titrierenden Mischungen wurde eine solche Quantität Alkohol hinzugefügt, daß die Flüssigkeit wenigstens 40% Alkohol enthielt (A. Kanitz, Ber. der D. Ch. G., Bd. XXXVI, S. 400, 1903); die CaCl_2 enthaltenden Proben wurden außerdem mit Äther versetzt. (Siehe Tab. VI.)

2. Fettsynthese. 5 ccm Ölsäure wurden mit 10 ccm Glycerinextrakt und 1—2 ccm Wasser resp. der Salzlösung vermischt und durchgeschüttelt. Die Aciditätsbestimmung geschah in der S. 239 beschriebenen Weise. Thermostat 37°

Tabelle VI.

Nr.	5 ccm	Acidität in ccm $n/10$ -NaOH	
		nach 6 Stunden	
1	Wasser	21,0	
2	$n/10$ -NaCl	18,5	
3	$n/2$ - >	17,0	
4	$n/1$ - >	13,5	
5	$n/10$ -CaCl ₂	17,0	
6	$n/2$ - >	12,0	
7	$n/1$ - >	9,5	

während des Tages. In den an der Tab. VII und XIII zusammengestellten Versuchen kam die Ölsäure von Kahlbaum und der durch die Chamberlandsche Kerze filtrierte Extrakt zur Verwendung, während zu den darauf folgenden Versuchen die aus käuflichem Olivenöl nach dem a. a. O. (Diese Zeitschr., Bd. LXV, S. 232, 1910) beschriebenen Verfahren bereitete Ölsäure und durch das Papier filtrierter, klarer Extrakt benutzt wurden.

Tabelle VII.

Nr.	1 ccm	Acidität in ccm $n/10$ -NaOH				
		sofort	1 Tag	3 Tagen	15 Tagen	25 Tagen
1	Wasser	19,1	16,9	14,0	11,9	11,9
2	$n/50$ -NaCl	19,1	17,0	14,2	12,4	—
3	$n/20$ - >	19,0	16,9	14,5	13,0	—
4	$n/10$ - >	19,2	17,2	14,8	13,7	13,7
5	$n/5$ - >	19,1	17,3	14,9	13,8	—
6	$n/2$ - >	19,2	18,3	17,3	16,5	—
7	$n/1$ - >	19,2	18,7	18,4	18,1	18,1

Tabelle VIII.

Nr.	2 ccm	Acidität in ccm $n/10$ -NaOH			
		sofort	1 Tag	2 Tagen	8 Tagen
1	Wasser	17,2	14,1	12,5	8,8
2	$n/40$ -NaCl	17,3	14,5	12,5	8,5
3	$n/8$ - >	17,2	14,9	13,1	9,1
4	$n/4$ - >	17,2	15,4	14,1	11,1
5	$n/2$ - >	17,4	16,3	15,7	14,8
6	Wasser	17,4	—	12,6	8,5
7	$n/20$ - Na_2SO_4	17,4	—	14,1	8,4
8	$n/2$ - >	17,5	—	15,3	13,4
9	$n/2$ -NaBr	17,3	—	15,1	12,4
10	$n/2$ - NaNO_3	17,5	—	15,6	14,3

Tabelle IX.

Nr.	2 ccm	Acidität in ccm $n/10$ -NaOH		
		sofort	nach 1 Tag	nach 10 Tagen
1	Wasser	17,8	15,2	10,6
2	$n/20$ - CaCl_2	17,8	15,5	11,2
3	$n/4$ - >	17,8	16,5	15,9
4	$n/2$ - >	17,8	16,9	16,7

Bei der angewandten Versuchsanordnung hatten alle neutralen Salze nur einen hemmenden Einfluß sowohl auf die Lipolyse als auch auf die Liposynthese; die beschleunigende Phase konnte nicht beobachtet werden. Die hemmende Wirkung der neutralen Salze macht sich nicht nur auf die Geschwindigkeit, sondern auch auf den Endzustand der Fettsynthese geltend.

B. Versuche mit der Seife.

Die Seife kann sowohl die Fettspaltung als auch die Fettsynthese beschleunigend oder hemmend beeinflussen, was von der Versuchsanordnung und der angewandten Menge abhängt.

Werden die Versuche derart angeordnet, daß der hemmende Einfluß der Seife sich geltend macht, dann kann diese Hemmung durch entsprechenden Zusatz von einer Salzlösung

beseitigt werden. Die begünstigende Wirkung der Salze tritt desto mehr zum Vorschein, je größer die durch die Seife verursachte Hemmung ist.

1. Fettspaltung. Versuchsanordnung wie vorher, nur kam statt des neutralen Olivenöls eine durch Versetzen des sauren Olivenöls mit $n/_{10}$ -NaOH dargestellte Ölemulsion zur Verwendung. 5 ccm des käuflichen Olivenöls verbrauchten zur Neutralisation 1,4 ccm $n/_{10}$ -NaOH. 5 ccm dieses Olivenöls wurden mit 0,5, 1,4, 2 ccm $n/_{10}$ -NaOH versetzt, dann 5 ccm Wasser bzw. einer Salzlösung und schließlich 5 ccm Lipase-glycerinextrakt hinzugefügt (Tab. X). Zu den in der Tabelle XI zusammengestellten Versuchen wurde aber ein durch Versetzen mit der Ölsäure angesäuertes Olivenöl benützt. 5 ccm dieses Olivenöls verbrauchten zur Neutralisation 4,1 ccm $n/_{10}$ -NaOH. Dieselbe Versuchsanordnung. Den mit CaCl_2 versetzten Proben wurde vor der Titration außer Alkohol auch Äther hinzugefügt.

Es sei noch bemerkt, daß eine frisch bereitete Ölemulsion ohne Salzzusatz weit weniger gespalten wurde als eine andere, gleich beschaffene, jedoch ein bis mehrere Tage alte, bei sonst gleicher Versuchsanordnung.

Bei Zusatz von Toluol, der Fette und auch Kalkseifen löst und so die Emulsion beeinflusst (E. Laqueur, Hofm. Beitr., Bd. VIII, S. 281, 1906; Ibrahim und Kopeč, Zeitschr. Biol., Bd. LIII, S. 201, 1910), tritt der befördernde Einfluß der Salze nicht so gut zum Vorschein.

Tabelle X.

Nr.	$n/_{10}$ -NaOH ccm	5 ccm	Acidität	
			nach 6 Stunden	nach 24 Stunden
1	0,5	Wasser	15,0	29,3
2	0,5	$n/_{4}$ -NaCl	10,5	17,6
3	0,5	$n/_{2}$ -CaCl ₂	18,5	27,4
4	1,4	Wasser	5,2	16,5
5	1,4	$n/_{1}$ -NaCl	20,0	35,1
6	1,4	$n/_{2}$ -CaCl ₂	21,0	37,3
7	2,0	Wasser	0,8	3,1
8	2,0	$n/_{2}$ -NaCl	2,4	6,3
9	2,0	$n/_{2}$ -CaCl ₂	35,7	44,3

Tabelle XI.

Nr.	n_{10} -NaOH ccm	5 ccm	Acidität	
			nach 6 Stunden	nach 24 Stunden
1	4,1	Wasser	0,9	1,3
2	4,1	n_{10} -NaCl	1,2	—
3	4,1	n_{2} - »	14,7	35,4
4	4,1	n_{1} - »	26,5	50,5
5	4,1	n_{10} -CaCl ₂	6,5	—
6	4,1	n_{2} - »	30,6	38,8
7	4,1	n_{1} - »	27,7	—

2. Fettsynthese. 5 ccm Ölsäure wurden mit 1 ccm n_{10} -, n_{5} -, n_{2} -NaOH bzw. einer 5%igen Lösung des Natriumoleats versetzt; dann wurde 1 ccm Wasser resp. einer Salzlösung und schließlich 10 ccm Lipaseglycerinextrakt hinzugefügt.

Tabelle XII.

Nr.	1 ccm	1 ccm	Acidität nach				
			sofort	1 Tag	4 Tagen	10 Tagen	15 Tagen
1	Wasser	Wasser	17,7	15,6	12,7	10,9	10,6
2	n_{10} -NaOH	»	17,6	16,8	14,7	10,7	10,1
3	n_{5} - »	»	17,5	16,6	15,0	11,1	9,7
4	n_{2} - »	»	17,0	16,1	12,8	8,9	7,9
5	n_{10} - »	n_{10} -NaCl	17,4	15,4	—	8,8	—
6	n_{10} - »	n_{10} -CaCl ₂	17,7	15,2	—	9,2	—
7	5% Natriumoleat	Wasser	17,6	16,8	—	11,5	—
8	»	n_{2} -NaCl	17,5	14,1	—	8,9	—
9	»	n_{2} -CaCl ₂	17,8	15,5	—	9,9	—

Tabelle XIII.

Nr.	0,5 ccm	0,5 ccm	Acidität nach			
			sofort	1 Tag	3 Tagen	15 Tagen
1	Wasser	Wasser	19,0	16,8	14,7	12,5
2	n_{2} -NaOH	»	18,7	17,4	15,7	10,6
3	»	n_{5} -NaCl	18,6	17,2	14,2	8,9
4	»	n_{2} - »	18,7	17,2	14,8	9,6
5	»	n_{1} - »	18,7	17,4	15,3	10,5

Durch die Seife wird bei dieser Versuchsanordnung die Geschwindigkeit der Fettsynthese verlangsamt, trotzdem der Gleichgewichtszustand zugunsten der Esterbildung verschoben ist. Durch einen passenden Zusatz von Salzlösung wird diese Hemmung beseitigt (Tab. XII). Ein Überschuß des Salzes hemmt wieder (Tab. XIII).

Zusammenfassung.

1. Aus dem Trockenpankreas vom Schwein können klare, das Chamberlandfilter passierende, wirksame Lipaselösungen erhalten werden.

2. Die Pankreaslipase synthetisiert auch die Palmitin- und Stearinsäure mit Glycerin.

3. Die Neutralsalze üben sowohl auf die Fettspaltung als auch auf die Fettsynthese einen hemmenden Einfluß aus, der jedoch bei Gegenwart der Seife nicht nur beseitigt, sondern sogar fördernd sein kann.
