

### Zusammenfassung

Eine genaue Analyse der Glykoside der Samen derjenigen Form von *Acokanthera Schimperii* (A.DC.) BENTH. et HOOK. (entspr. Herbarmuster Nr. B 9342), welche die Wa-Giriama zur Bereitung von Pfeilgift benützen, wird angegeben. Die Trennung wurde papierchromatographisch kontrolliert. Diese Form zeichnet sich speziell durch hohen Gehalt an Ouabain und völliges Fehlen von Acovenosid A aus. Ausser dem Ouabain wurde die Anwesenheit von mindestens 21 weiteren Glykosiden festgestellt. Von diesen insgesamt 22 Stoffen wurden 16 (Q, N, P, G, H, R1 + R2, S, T, U, Y1, Y2, Digl-P, Digl-N, Z und Ouabain) in Kristallen (R1 + R2 nur in Form eines Mischkristallisats) erhalten; von zwei weiteren (FTh 13 und FTh 28) wurden krist. O-Acetylderivate gewonnen. Die vier restlichen (V, W, FTh 25 und  $\psi$ -K) wurden nur in amorpher, aber papierchromatographisch einheitlicher oder nahezu einheitlicher Form isoliert. Ausser Ouabain und den zwei Acolongiflorosiden G und H, die schon bekannt waren, und den zwei Acoschimperosiden N und P, von denen N bereits aus einer andern Form von *A. Schimperii* (aus Erythräa) und beide aus dem Holz der hier untersuchten Pflanze isoliert wurden, dürfte es sich vermutlich um neue Stoffe handeln. Die Konstitution von P wurde vollständig, diejenige von Digl-P weitgehend aufgeklärt. Durch fermentativen Abbau wurde festgestellt, dass mindestens sieben der isolierten Stoffe (nämlich V, W, FTh 25, Y1, Y2, Digl-P und Digl-N) Di- oder Triglykoside darstellen, die sich mit geeigneten Glucosidasen zu D-Glucose und Monoglykosiden abbauen liessen. Ausser bei Y1 + Y2 wurden dabei Monoglykoside erhalten, die auch in freiem Zustand in den Samen enthalten waren. Die amorphen Präparate V, W und FTh 25 waren nach den Resultaten des fermentativen Abbaus wahrscheinlich nicht einheitlich, obwohl sie im Papierchromatogramm nur einen Fleck gaben. Sie bestanden vermutlich aus je 2 Komponenten mit sehr ähnlichen Eigenschaften, insbesondere gleichen Laufstrecken im Papierchromatogramm. Die Einheitlichkeit von Y1 und Y2 ist nicht sicher bewiesen.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel

## 2. Die Katalase-Aktivität im Schwanzgewebe der Larve von *Xenopus laevis* DAUD.<sup>1)</sup>

von **H. P. von Hahn**

(17. X. 58)

Von allen bisher an Organen tumortragender Tiere untersuchten Enzymsystemen zeigt die Katalase der Leber und der Niere von Säugetieren die stärkste Veränderung gegenüber dem normalen Aktivitätsniveau. So ist sie z. B. in der Leber tumortragender Ratten auf etwa 5% der normalen Aktivität reduziert<sup>2)</sup>. Wie neuere Unter-

<sup>1)</sup> Ausgeführt mit Unterstützung der Eidgenössischen Kommission zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung aus Arbeitsbeschaffungsmitteln des Bundes. Herrn Prof. F. E. LEHMANN möchte ich für seine wertvollen Ratschläge und sein reges Interesse an dieser Arbeit herzlich danken. Herrn H. W. LEHMANN danke ich für umfangreiche technische Assistenz.

<sup>2)</sup> Siehe Übersicht bei J. P. GREENSTEIN, *Biochemistry of Cancer*, Academic Press Inc., Publ., New York N. Y. 1954.

suchungen gezeigt haben, wird sowohl von Tumoren<sup>3)</sup> wie auch von normalen Organen<sup>4)</sup> ein Inhibitor für Katalase abgegeben, dessen bei Tumortieren gesteigerte Bildung für die starke Aktivitätserniedrigung in der Leber verantwortlich ist.

Im Rahmen der Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe über die Beeinflussung intrazellulärer Enzymsysteme in der regenerierenden Schwanzspitze der Larve des Krallenfrosches *Xenopus laevis* DAUD. durch morphostatische Substanzen war daher die Katalase von besonderem Interesse. Wie wir bereits kurz mitteilten, spricht die Katalase im *Xenopus*-Schwanz sehr empfindlich auf verschiedene physiologische Zustände an<sup>5)</sup>. Erste Versuche haben auch ergeben, dass in der regenerierenden Schwanzspitze der *Xenopus*-Larve die Katalase-Aktivität stark erniedrigt ist<sup>6)</sup>. Die weitere Untersuchung dieses Enzyms im *Xenopus*-Schwanz, und daher die genaue Ausarbeitung einer dazu geeigneten Methode, stellt auf Grund der ersten biologischen Ergebnisse<sup>5)</sup><sup>6)</sup> ein brauchbares Objekt zur weiteren Aufklärung der enzymatischen Muster im regenerierenden Schwanz der *Xenopus*-Larve (das eigentliche Ziel dieser Arbeit) dar.

Die üblichen titrimetrischen Methoden zur Katalase-Bestimmung in Homogenaten, die  $H_2O_2$  als Substrat benützen<sup>7)</sup>, sind nicht zur routinemässigen Bestimmung grösserer Serien von Homogenaten geeignet. Auch ist ihre Reproduzierbarkeit nicht gut genug, um ihre Verwendung im für unser Material erforderlichen Mikromaßstab zu erlauben. FEINSTEIN<sup>8)</sup> hat eine Methode beschrieben, bei der Homogenatproben von Rattenorganen in einer gesättigten Natriumperboratlösung inkubiert werden. Der Überschuss an vorgelegtem Substrat wird mit Permanganat zurücktitriert. Diese Methode haben wir der Serienbestimmung im Mikromaßstab angepasst. So konnten wir mit technisch geringstem Aufwand gut reproduzierbare Serienbestimmungen von Katalase mit Homogenatproben von je ca. 10  $\mu$ l ausführen.

Katalase war bisher in Amphibienlarven noch nicht bestimmt worden. Wir haben daher zunächst versucht, dieses Enzym im *Xenopus*-Larvenschwanz in seinen Eigenschaften gegenüber dem Perboratsubstrat zu charakterisieren. Dies soll uns als Basis für weitere Untersuchungen dienen, über die später an anderer Stelle berichtet werden soll.

**Mikro-Katalase-Bestimmung in Geweben.** a) *Homogenat*: Das frische Gewebe wird mit m/15 Phosphatpuffer nach SÖRENSEN, pH 7,0, in einem Glasmikrohomogenisator bei 0° verrieben. Die Konzentration des Stammhomogenates wird für *Xenopus*-Larvenschwanz je nach Aktivität des Gewebes auf etwa 1:5 bis 1:100 eingestellt. Für eine vollständige Bestimmung einer Konzentrationsstufe (mit 3 Stichproben) werden etwa 50  $\mu$ l Homogenat benötigt. Das Homogenat muss innerhalb 1–2 Std. benützt und bis dahin in Eiswasser aufbewahrt werden.

b) *Substrat*: Nach FEINSTEIN<sup>8)</sup> wird eine 1,5-proz. Lösung von  $NaBO_3 \cdot 4H_2O$  ( $\sim$  gesättigt) mit konz. HCl auf pH 7,0 eingestellt. Die Substratlösung zersetzt sich bei Zimmertemperatur langsam und muss stets gekühlt aufbewahrt werden.

<sup>3)</sup> J. P. GREENSTEIN, J. Natl. Cancer Inst. **15**, Suppl., 1603 (1955); W. NAKAHARA & F. FUKUOKA, Gann. Japan. J. Cancer Research **40**, 45 (1949); **41**, 47 (1950); R. E. GREENFIELD & A. MEISTER, J. Natl. Cancer Inst. **11**, 997 (1951).

<sup>4)</sup> G. CERIOTTI & L. SPANDRIO, Biochem. biophys. Acta **18**, 303 (1955).

<sup>5)</sup> H. P. VON HAHN, Experientia **14**, 67 (1958).

<sup>6)</sup> H. P. VON HAHN, unveröffentlicht.

<sup>7)</sup> H. VON EULER & K. JOSEPHSON, Liebigs Ann. Chem. **452**, 158 (1927). Siehe auch: Methods in Enzymology, S. P. COLOWICK & N. O. KAPLAN, Eds., Academic Press Inc., Publ., New York N. Y. 1955, Vol. III, section V.

<sup>8)</sup> R. N. FEINSTEIN, J. biol. Chemistry **180**, 1197 (1949).

c) *Inkubation*: 90–100  $\mu$ l Substratlösung und 20–25  $\mu$ l Phosphatpuffer werden in Inkubationsröhrchen (5  $\times$  45 mm) eingefüllt. Für jede Messreihe werden neben 2–4 Blindversuchen 2–3 Röhrchen pro Homogenat vorgesehen. In einem geeigneten Gestell kommen alle Röhrchen in ein auf 37° thermostatisch kontrolliertes Wasserbad, in das sie etwa zur Hälfte eintauchen. Nach ca. 5 Min. Temperaturadaptation kann mit dem Einfüllen der Homogenatproben (10–15  $\mu$ l) begonnen werden. Die Blindversuche erhalten Phosphatpuffer statt Homogenat. Nach genau 5 Min. stoppt man die Reaktion durch Zugabe von 120–140  $\mu$ l 2-n. Schwefelsäure. Um ein genaues Einhalten der Inkubationszeit zu ermöglichen, füllt man die Röhrchen in Abständen von 2 Min., so dass ab der 5. Versuchsminute jede Min. abwechslungsweise ein Röhrchen mit Homogenat und eines mit Säure beschickt wird. Das für diese Dimensionen erforderliche Arbeiten mit CARLSBERG-Konstruktionspipetten macht es unmöglich, gleichzeitig 2 Pipettierungen durchzuführen. Alle Röhrchen bleiben im Bad, bis das letzte gestoppt ist.

d) *Titration*: Sofort nach Ansäuern des letzten Röhrcheninhaltes wird das überschüssige Perborat in sämtlichen Proben bei Zimmertemperatur mit 0,05-n.  $\text{KMnO}_4$  zurücktitriert. Die Blindwerte liegen (bei 90–100  $\mu$ l vorgelegtem Substrat) um 0,350 ml 0,05-n.  $\text{KMnO}_4$ . Die Reproduzierbarkeit der Werte verschiedener Proben des gleichen Homogenates liegt nach unseren Erfahrungen innerhalb  $\pm 0,0025$  ml. Die Versuche müssen so angesetzt werden, dass höchstens 30% des vorgelegten Substrates durch die enzymatische Reaktion verbraucht werden darf, da sonst die Reaktionsgeschwindigkeit sinkt, was zu niedere Werte liefert (s. S. 52).

e) *Ausrechnung*: Die Katalase-Aktivität wird in  $\mu$ Äq. verbrauchtes Perborat angegeben. Als Bezugsgrößen werden üblicherweise das Frischgewicht (mg), das Trockengewicht (mg) oder der Stickstoffgehalt des Gewebes nach KJELDAHL (in  $\mu$ g N) benützt.

ml Blindwert – ml Homogenatwert = ml verbrauchtes  $\text{KMnO}_4$ .

ml  $\text{KMnO}_4 \cdot \text{Normalität} \cdot \text{Faktor} \cdot 10^3 = \mu$ Äq. verbrauchtes Perborat.

**Die Charakterisierung der Katalase des *Xenopus*-Schwanzes in ihrer Reaktion mit Natriumperborat.** — a) *Die Abhängigkeit der enzymatischen Reaktion von der Homogenatkonzentration.*

Verdünnungsreihen wurden von Stammhomogenaten (1:5) mit Phosphatpuffer pH 7,0 hergestellt und unter Standardbedingungen gemessen (90  $\mu$ l Substrat zu 1,5%, pH 7,0; 10  $\mu$ l Homogenat; 5 Min. Inkubation bei 37°).

Die Zunahme der Spaltungsreaktion verläuft linear mit der Homogenatkonzentration bis zu Konzentrationen von 200 mg Frischgewicht/ml (1:5) (siehe Fig. 1), so dass die gemessenen Aktivitätswerte in  $\mu$ Äq. verbrauchtes Perborat direkt miteinander verglichen werden können, ohne dass die Einführung einer willkürlichen linearen Enzymeinheit auf Grund einer Umsatzkurve nötig wäre. In der Tabelle sind für das in Fig. 1 dargestellte Beispiel die einzelnen Messwerte und die daraus errechneten Aktivitäten angegeben, um an einem konkreten Beispiel die erreichbare Genauigkeit dieser Methode zu demonstrieren.

*Katalase-Aktivität einer Verdünnungsreihe eines Xenopus-Schwanz-Homogenates*

Homogenat- konzentration	ml 0,05-n. $\text{KMnO}_4$ verbraucht		$\mu$ Äq. $\text{NaBO}_3$ verbraucht		Mittelwert
	1. Probe	2. Probe	1. Probe	2. Probe	
1:40	0,029	0,028	1,42	1,36	1,39 $\pm$ 0,03
1:20	0,052	0,055	2,54	2,68	2,61 $\pm$ 0,07
1:10	0,095	0,101	4,64	4,93	4,78 $\pm$ 0,15
1:5	0,196	0,191	9,56	9,32	9,44 $\pm$ 0,12

b) *Die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Substratkonzentration.*

Perboratlösungen verschiedener Konzentration wurden auf pH 7,0 eingestellt. Für jede Konzentrationsstufe wurden 2 Blindwerte und 2 Messwerte bestimmt. 90  $\mu$ l Substrat, 10  $\mu$ l Homogenat 1:10, 5 Min. Inkubation bei 37°.

Bis zu einer Substratkonzentration von etwa 0,06-m. steigt die Reaktionsgeschwindigkeit fast linear mit der Konzentration (Fig. 2). Dann flacht sich die Kurve ganz ab und verläuft fast horizontal bis zum Erreichen der Sättigung der Lösung an Perborat (1,5% = 0,097-m.). Es lässt sich unter den angewendeten Versuchsbedingungen ein Maximum der Reaktionsgeschwindigkeit feststellen. Dies erlaubt, auf dem üblichen graphischen Weg die scheinbare MICHAELIS-Konstante für diesen Fall zu 0,03-m. zu bestimmen. Dieser Wert stimmt sehr genau mit dem in der älteren Literatur für Leberkatalase angegebenen Wert von 0,03-m. überein.

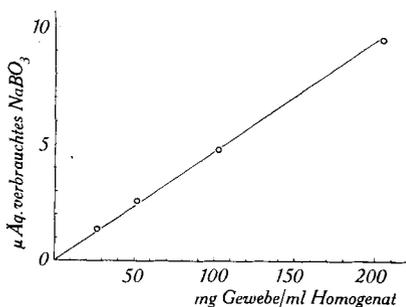


Fig. 1. Abhängigkeit der Katalase-Aktivität im *Xenopus*-Schwanz (Ordinate) von der Homogenatkonzentration (Abszisse). Versuchsbedingungen siehe im Text

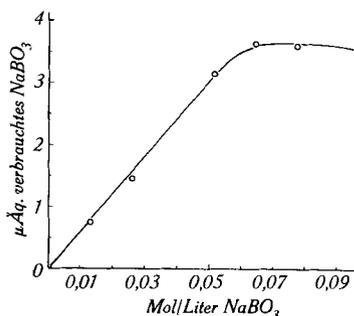


Fig. 2. Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit (Ordinate) von der Substratkonzentration (Abszisse) bei 37° und 5 Min. Inkubation

In neuerer Zeit konnten CHANCE<sup>9)</sup> und BONNICHSEN *et al.*<sup>10)</sup> zeigen, dass Katalase keinen eigentlichen MICHAELIS-Komplex bildet, und dass man bei hohen Enzymkonzentrationen und sehr kurzer Inkubationszeit (wenige Sek.) kein Maximum der Substratkonzentration/Reaktionsgeschwindigkeitskurve findet. Das Auftreten eines flachen Maximums bei niederen Enzymkonzentrationen, wie sie das Arbeiten mit verdünnten Homogenaten mit sich bringt, und bei längeren Inkubationszeiten beruht auf der Ausbildung des sekundären, inaktiven Enzym-Substrat-Komplexes (Komplex II).

Unter unseren Versuchsbedingungen ist die Reaktionsgeschwindigkeit unabhängig von der Substratkonzentration vom Anfangswert von 0,097-m. an bis etwa 0,06-m. (Abnahme rund 30%). Innerhalb dieses Intervalls kann also ohne Berücksichtigung der Substratkonzentration gearbeitet werden.

#### c) Die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit vom pH.

1,5-proz. Natriumperborat-Lösung mit konz. HCl auf die gewünschten pH-Werte gebracht. 90 µl Substrat und 10 µl Homogenat 1:10 (in dest. Wasser statt in Puffer hergestellt) pro Röhrchen. Statt Puffer werden 20 µl Wasser zum Substrat gegeben. Für jeden pH-Wert 2 Blindwerte und 2 Messwerte. 5 Min. Inkubation bei 37°. Die Substrate wurden vor jedem Ansatz mit einem METROHM-pH-Meter kontrolliert.

Die pH-Aktivitätskurve (Fig. 3) zeigt ein breites Optimum um pH 7,5. Über einem Bereich von fast einer ganzen pH-Einheit werden noch über 95% der Aktivität des Maximums erreicht. Die Reaktion ist also nur wenig pH-abhängig im mittleren Bereich, doch kommt sie im stark sauren Gebiet völlig zum Stillstand, was das

<sup>9)</sup> B. CHANCE, Acta chem. scand. **1**, 236 (1947).

<sup>10)</sup> R. K. BONNICHSEN, B. CHANCE & H. THEORELL, Acta chem. scand. **1**, 685 (1947).

Stoppen durch Zugabe von 2-n. Schwefelsäure erlaubt. Eine ähnlich breite pH-Kurve, mit einem etwas unbestimmten Maximum zwischen pH 7 und 8 beschreibt FEINSTEIN<sup>8)</sup> für Katalase aus Rattenorganen. Die Vermutung, dass die breite pH-Kurve durch eine eigene, pH-unabhängige katalytische Wirkung des Homogenates hervorgerufen werde, erweist sich als nicht zutreffend. Führt man einen Blindversuch mit gekochtem Homogenat statt mit Wasser aus, so erhält man genau die gleiche breite Kurve wie mit Wasser. Das gekochte Homogenat zeigt also im gesamten gemessenen pH-Bereich keinerlei katalytische Wirkung.

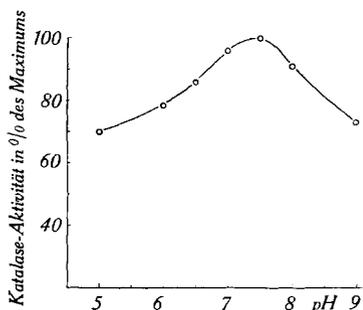


Fig. 3. Abhängigkeit der Katalase-Aktivität von Xenopus-Homogenat (Ordinate) vom pH des Substrats (Abszisse).

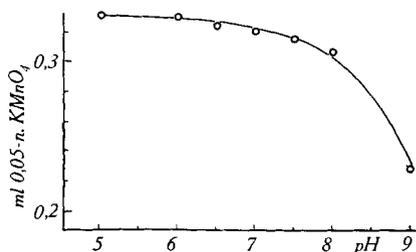


Fig. 4. Stabilität von Perboratlösungen bei 37° in Abhängigkeit vom pH. Titration von je 92  $\mu$ l 1,5-proz. NaBO<sub>3</sub> (Blindwerte der in Fig. 3 dargestellten pH-Reihe)

Trägt man die gemessenen Blindwerte gegen das pH auf, so zeigt es sich, dass das Substrat mit zunehmendem pH instabiler wird: ab pH 7,5–8 nehmen die Blindwerte während der Dauer der Inkubation auf 37° rasch ab (Fig. 4). Unterhalb pH 7,0 ist der Verlust an Substrat durch thermische Zersetzung fast nicht mehr pH-abhängig und viel geringer und regelmässiger als im alkalischen Gebiet. Bei der Bestimmung grösserer Serien, bei denen sich die Gesamtinkubationszeit über 50 und mehr Minuten hinzieht, ist es daher von Vorteil, anstatt beim Optimum von pH 7,5 bei Werten um pH 6,5–7,0 zu arbeiten. Der geringe Aktivitätsverlust wird durch die grössere Regelmässigkeit der hier geringeren thermischen Zersetzung gestoppter und nicht gestoppter Proben aufgewogen.

#### d) Der zeitliche Verlauf der enzymatischen Reaktion.

Standardansätze mit einem Homogenat 1:10 wurden 1 bis 15 Min. bei 37° inkubiert. Je zwei Messwerte pro Inkubationszeit. Zwei Blindversuche von je 15 Min. für jede Messreihe.

Der Verlauf der Kurve<sup>11)</sup> der umgesetzten Menge in Funktion der Zeit zeigt, dass die Reaktion während längstens 1½–2 Min. linear verläuft. Sie biegt dann sehr rasch ab, um nach etwa 10 Min. völlig horizontal zu werden. Es handelt sich hier nicht um eine Begrenzung der Reaktion durch die Substratmenge, sondern, wie schon von der Verwendung von freiem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> her bekannt, um eine Vergiftung des Enzyms durch sein Substrat. Für die Durchführung von Serienbestimmungen muss daher eine Standard-Inkubationszeit gewählt werden. In Anlehnung an FEINSTEIN<sup>8)</sup> wähl-

<sup>11)</sup> Der zeitliche Verlauf der enzymatischen Reaktion auf NaBO<sub>3</sub> wird von R. KRESSLI, H. ERLMAYER und H. AEBI, Helv. 42, Abh. No. 16 (1959), an Hand von Versuchen mit kristalliner Katalase diskutiert. Da der Kurvenverlauf mit Xenopus-Homogenat den Ergebnissen dieser Autoren genau entspricht, sei hier auf diese Arbeit verwiesen.

ten wir die Zeit von 5 Min. Mit *Xenopus*-Schwanzhomogenat ist zu diesem Zeitpunkt die Reaktion zu etwa 80–90% vollzogen. Für Serienbestimmungen ist eine möglichst kurze Inkubationszeit wegen des gestaffelten Zeitschemas wünschenswert, und die Reaktionskurve ist doch bereits so flach, dass beim Pipettieren selbst Zeitungenauigkeiten von 2–3 Sek. sich nicht mehr messbar auswirken.

**Diskussion der Ergebnisse.** Wie die hier beschriebenen Ergebnisse zeigen, verhält sich die Katalase des *Xenopus*-Schwanzes in ihrer Reaktion auf Natriumperborat sehr ähnlich wie solche aus Säugetierorganen. Die Spaltung von  $H_2O_2$  verläuft linear mit der Homogenatkonzentration, wie dies bei kristalliner und bei Rattenleber-Katalase auch der Fall ist<sup>8)</sup>. Erst oberhalb von Konzentrationen um 1:5 erhält man niedrigere Aktivitätswerte als die theoretisch erwarteten. Der Hauptunterschied gegenüber Leberhomogenaten liegt bei *Xenopus* in den absoluten Werten der Katalase-Aktivität. Während man für Rattenleber Werte um 800  $\mu\text{Äq}$  verbrauchtes Perborat pro mg Frischgewicht findet<sup>8)</sup>, liegen hier die mittleren Werte um 3–5  $\mu\text{Äq}/\text{mg}$ , wobei unter physiologischen Bedingungen die Aktivität von der Basis zu Schwanzspitze zunimmt. Die höchsten Werte, die in der äussersten Schwanzspitze sehr grosser Larven gefunden wurden, lagen um 25  $\mu\text{Äq}/\text{mg}$  Frischgewicht<sup>5)</sup>. Dieser niedere Enzymgehalt macht für die Bestimmung absoluter Aktivitätswerte bei hohen Homogenatkonzentrationen das Mitführen von Homogenatproben ohne Substrat erforderlich, um den Anteil an Permanganat-titrierbaren Stoffen zu bestimmen. Dieser Wert ist dann von den Titrationswerten abzuziehen, um den wahren Verbrauch an Perborat durch die enzymatische Reaktion zu erhalten.

Der optimale pH-Bereich der *Xenopus*-Katalase liegt zwischen pH 7 und pH 8; dies entspricht genau dem normalen Aktivitätsbereich der Säugerkatalase. Die *Xenopus*-Katalase zeigt noch bis pH 5 einerseits und pH 9 andererseits über die Hälfte der optimalen Aktivität; bei der Leber-Katalase ist der weitere Abfall der Kurve nicht ganz so breit, aber sehr ähnlich. *Xenopus*-Katalase verhält sich also ganz analog der Säuger-Katalase. Während jedoch Leberhomogenate nach Zerstören des Enzyms durch Erhitzen noch eine schwache katalytische Aktivität in bezug auf  $H_2O_2$ -Spaltung zeigen<sup>12)</sup>, die sich über den gesamten pH-Bereich erstreckt, hat gekochtes *Xenopus*-Homogenat gegenüber Perborat keinerlei Aktivität mehr. Bekanntlich zeigen alle Fe-Porphyrin-haltigen konjugierten Proteine, die freien Fe-Porphyrine, und selbst noch Fe-Ionen, *in vitro* eine schwache katalytische Aktivität. Derartige Substanzen bedingen die thermoresistente Restaktivität des Leberhomogenates. Im *Xenopus*-Schwanz kommen solche Substanzen offenbar in zu geringer Konzentration vor, um mit dieser Methode noch fassbar zu sein.

Die Ähnlichkeit des Verhaltens der *Xenopus*-Katalase mit dem der Säuger-Katalase (MICHAELIS-Konstante, pH-Bereich, Konzentrationsabhängigkeit, zeitlicher Verlauf) ist mit der Ansicht vereinbar, dass die Wirkung dieses Enzyms zur Hauptsache in seiner prosthetischen Gruppe, dem Protohämatin, lokalisiert ist. Katalasen aus verschiedenen tierischen Quellen haben wahrscheinlich verschiedene, artspezifische Proteinanteile, die als Träger der Protohämatingruppe dienen, doch geht die Bildung des primären aktiven Enzym-Substrat-Komplexes wohl ausschliesslich am zentralen Fe-Atom der prosthetischen Gruppe vor sich.

<sup>12)</sup> Persönliche Mitteilung von Prof. H. AEBI, dem ich an dieser Stelle für seine Anregungen bestens danken möchte.

## SUMMARY

A micromethod for determining catalase activity in the tail tissue of larvae of *Xenopus laevis* DAUD. has been developed from the perborate method of FEINSTEIN. In the tails of *Xenopus* larvae catalase activity has much the same properties (pH optimum and range, apparent MICHAELIS constant, reaction course, linearity with homogenate concentration) as those described for rat liver homogenates and crystalline catalase. It is concluded that catalases from various animal sources have the same prosthetic group but may differ in having species-specific proteins as apoenzymes.

Zoologisches Institut der Universität Bern

### 3. Ein Beitrag zum Problem der Membranelektrode. Die Bestimmung des Äquivalenzpunktes mit Hilfe des Membranpotentials

#### I. Fällungstitrationen von Silbersalzen

von J. Bersier, P. Bersier, W. Trueb und F. Hügli

(22. X. 58)

Membranpotentiale können zu Konzentrationsbestimmungen herbeigezogen werden. Die bekannteste Membranelektrode ist die Glaselektrode. Die Potentialeinstellung erfolgt selektiv in bezug auf die H-Ionen. Die Erzeugung von Einzelionenselektivitäten an Membranen bereitet grosse Schwierigkeiten. Mit Ionenaustauschermembranen gelingt es zuweilen, eine gewisse Selektivität in bezug auf Kationen bzw. Anionen herzustellen. Die Anwendung von Ionenaustauschermembranen als Indikatorelektrode in der volumetrischen Titration ergibt kleine Potentialsprünge im Äquivalenzpunkt und eine geringe Reproduzierbarkeit<sup>1)</sup>.

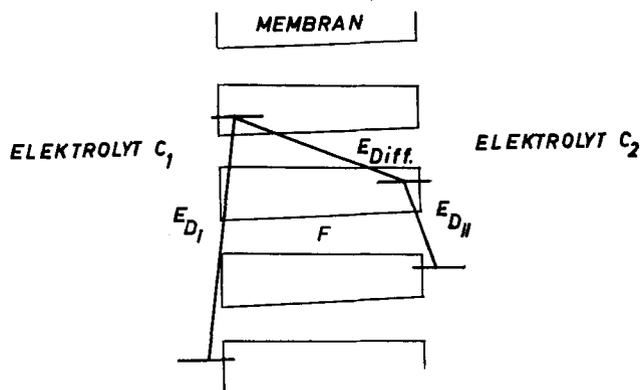


Fig. 1

$E_{D1,2}$  = DONNAN-Potentiale  $E_{Diff}$  = Diffusionspotential  
 $F$  = Festladungskonzentration  $\text{\AA}q/l$  Porenvolumen

$$E_M = E_{D1} + E_{D2} + E_{Diff.}$$

<sup>1)</sup> Siehe Zusammenfassung J. S. PARSONS, Anal. Chemistry 30, 1262 (1958).