

Beiträge zur Kenntnis der Autolyse.

Von
Dr. J. Arnheim.

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin.
(Der Redaktion zugegangen am 4. November 1903.)

Im Jahre 1891 hatte Salkowski in seiner grundlegenden Arbeit über die Autodigestion in den der Fäulnis durch Chloroformzusatz entzogenen tierischen Organen Fermente nachgewiesen, welche die Eiweißkörper in tiefer stehende Endprodukte zerlegen. Jacoby war es gelungen, in diesen von ihm als Autolyse bezeichneten Vorgängen das Ferment zu isolieren und auch die Spaltungsprodukte (Albumosen-Diamino- und Monoamino-säuren) näher zu charakterisieren. Ebenso wie in den Organen des Tierkörpers (Leber, Nieren, Pankreas, Milz etc.) wurde dieser Vorgang bei der Hefe, sowie im Hefepreßsaft (Salkowski, Hahn, Kufscher, Buchner) beobachtet. Der Hefepreßsaft ist dann verschiedentlich dazu benutzt worden, um seine Wirkung auf die Verdauung anderer (Schütz, Buchner) Eiweißkörper zu studieren.

In Analogie zu diesen Versuchen habe ich auf Anregung von Herrn Prof. Salkowski einige Versuche ausgeführt, die die Wirkung des proteolytischen Fermentes der Leber auf Gelatine¹⁾ betreffen.

Die Versuche wurden folgendermaßen ausgeführt: 250 g Kalbsleber wurden fein zerhackt, nachdem sie vorher von allen

¹⁾ Es wäre von größerem Interesse gewesen, Bindegewebe daraufhin zu untersuchen. Da es jedoch schwer ist, dasselbe in größerer Menge rein zu erhalten, so wurde die diesem Gewebe sehr nahe stehende Gelatine benutzt.

größeren Gefäßen und Fetteilchen befreit wurden, dann mit 2500 ccm Chloroformwasser nach Vorschrift Salkowskis 3 Tage lang im Thermostaten digeriert: 250 g derselben Leber werden ebenso behandelt und 50 g Gelatine, die vorher in heißem Wasser gelöst wurden, hinzugesetzt.

° Nach dem Herausnehmen aus dem Thermostaten wurden beide Flüssigkeiten ausgekocht, von dem auskoagulierten Eiweiß sowie den Fleischresten abfiltriert, gründlich nachgewaschen und auf ein bestimmtes Volumen (500 ccm) eingedampft, schließlich unter Chloroform aufbewahrt.

Qualitative Unterschiede waren in beiden Flüssigkeiten kaum nachweisbar. Die Reaktion war bei beiden schwach sauer: der einzige Unterschied bei den zahlreich angestellten Eiweißproben war der, daß die mit Gelatine versetzte Flüssigkeit eine sehr starke Biuretreaktion zeigte im Gegensatz zur Kontrollflüssigkeit, die keine ergab.

Es wurden nun folgende quantitative Bestimmungen gemacht: Zunächst wurde die Gesamtmenge des Stickstoffs in beiden Lösungen bestimmt, dann wurde eine bestimmte Menge nach Ansäuerung mit verdünnter Schwefelsäure mit Zinksulfat ausgesalzen, im Filtrate der Stickstoffgehalt bestimmt und für die ganze Flüssigkeitsmenge umgerechnet. (50 ccm, ausgesalzen mit H_2O auf ein Volumen von 100 ccm aufgefüllt; vom Filtrat werden 10 ccm zur N-Bestimmung benutzt.)

Die Stickstoffbestimmung machte hierbei zuerst große Schwierigkeiten, da die Kjeldahlkolben sowohl bei der Oxydation als auch noch mehr bei der Destillation ins Stoßen gerieten. Durch einen sehr starken Überschuß von Natronlauge, der das Ausscheiden von Zinksulfat verhinderte, gelang es schließlich, dieses Stoßen einigermaßen zu vermeiden.

Der Stickstoffgehalt der Lösungen nach Ausfällung mit Zinksulfat gibt den N-Gehalt an, der auf Peptone, Diamino- und Monamino-säuren fällt. Ein anderer Teil (10 ccm) wurde mit verdünnter Salzsäure angesäuert und mit Phosphorwolframsäure, bis kein Niederschlag mehr entstand, behandelt, auf ein bestimmtes Volumen (100) aufgefüllt, filtriert und 50 ccm zur N-Bestimmung benutzt: der Stickstoffwert wurde dann wieder

auf die ganze Flüssigkeitsmenge umgerechnet. Es wurden bei 5 Versuchen folgende Werte N erhalten (in g).

Versuch		Gesamt-N	N Nach Ausfällung mit Zink-sulfat	N Nach Ausfällung mit Phosphorwolframs.
I	Leber + Gelatine	7.9	3.29	2.10
	Kontrollösung	1.68	1.54	1.33
II	Leber + Gelatine	8.82	3.50	1.96
	Kontrollösung	2.94	2.80	2.52
III	Leber + Gelatine	8.30	3.85	2.20
	Kontrollösung	2.40	2.3	2.10
IV	Leber + Gelatine	9.52	7.70	3.38
	Kontrollösung	2.4	2.4	2.04
V	Leber + Gelatine	8.40	3.57	1.4
	Kontrollösung	1.54	1.26	0.98

Der N-Gehalt der zu den Versuchen verwandten Gelatine betrug für 50 g in den ersten drei Versuchen 6.4 g, in den beiden letzten, bei denen eine andere Sorte verwandt wurde, 7.0 g. Addiert man diese N-Werte der Gelatine zu dem der Kontrolllösungen zu, so zeigt sich, daß im Versuch 1, 4 und 5 bis auf kleine Unterschiede, die auf Versuchsfehler zu beziehen sind, in beiden Lösungen ungefähr die gleiche Menge Stickstoff bei der Autolyse gebildet worden ist, dagegen ist im Versuch 2 und 3 in der mit Gelatine versetzten Autolyse ein ganz Teil weniger N gebildet worden als in der Kontrollösung, es scheint in diesen Fällen also eine Hemmung stattgefunden zu haben. Die Betrachtung der Resultate bei den Leberautolysen selbst zeigt wieder die oft beobachtete Tatsache (Salkowski, Jacoby), daß hauptsächlich Monaminosäuren gebildet werden, nur geringe Mengen Diaminosäuren und Spuren Albumosen.

Man erhält in der Tabelle die N-Werte, die auf Albumosen fallen, wenn man die Rubrik 2 von 1, die auf Diaminosäuren und Pepton fallen, wenn man die Rubrik 3 von 2 abzieht. Es ergeben sich hier Werte von durchschnittlich 0.1 g N.

Betrachten wir nun die Verhältnisse bei den mit 50 g Gelatine versetzten Leberautolysen. Da die Gelatinelösungen normaliter durch Zinksulfat vollständig ausfällbar sind, wie ich

ausgeprobt habe, in den Versuchen aber der N-Gehalt nach der Ausfällung ein höherer ist als in den Kontrollversuchen nämlich um 1,1, 1,54, 1,65, 4,32, 2,17 g N), so kann diese Steigerung nur durch eine Einwirkung des proteolytischen Fermentes der Leber auf die Gelatine bezogen werden. Es ist also eine beträchtliche Vermehrung an Peptonen oder Diaminosäuren bei den mit Gelatine versetzten Leberautolysen eingetreten.

Aber auch eine Vermehrung des auf Monamminosäuren zu beziehenden Stickstoffes hat stattgefunden, wenigstens im Versuche 1, 3, 4, 5. Am stärksten ist dieselbe im Versuche 4. Im Versuche 3 ist die Vermehrung nur eine ganz geringe; hierbei muß aber berücksichtigt werden, daß die Gesamtmenge des gebildeten Stickstoffes bei der Autolyse eine geringere als im Kontrollversuche war.

So erklärt sich wohl auch im Versuch 2 die anscheinend geringere Menge des in den Monamminosäuren enthaltenen Stickstoffes als im Kontrollversuche. Aber selbst bei dieser Berücksichtigung kann in diesem einen Falle das Resultat nicht als positiv bezeichnet werden.

Abgesehen von diesem einen Falle — und auch hier nur in bezug auf die Monamminosäuren — ist also eine Zerlegung der Gelatine in tiefer stehende Endprodukte in recht erheblichen Mengen konstaterbar gewesen.

Was nun die stickstoffhaltigen Endprodukte betrifft, die bei der Autolyse entstehen, so hatte Jacoby mittels eines von Spiro angegebenen Verfahrens auch Glykokoll nachgewiesen.

In unseren Versuchen muß es als sehr wahrscheinlich angenommen werden, daß aus der Gelatine eine vermehrte Pepton- und Glykokollbildung stattgefunden hat.

Leider sind die Methoden noch nicht imstande, ein quantitatives Arbeiten zu gestatten.

Die alte Methode von Ch. Fischer und Gonnermann, die auf Überführung des Glykokolls in Hippursäure beruht, ließ fast immer im Stich; ein einziges Mal gelang es, eine ganz geringe Menge einer Substanz nachzuweisen, deren Schmelzpunkt bis auf 2 Grad dem der Hippursäure gleichkam.

Eigentümlich war die ungünstige Beeinflussung der Autolyse im Versuch 2 und 3. Daß die Konsistenzverhältnisse der Gelatinelösungen dies bedingten, dagegen sprach der Umstand, daß die Hemmung nicht in jedem Falle eingetreten war.

Trotzdem wurden einige Versuche angesetzt mit ähnliche Verhältnisse darbietenden Lösungen, nämlich Gummi arabicum. Derselbe wurde auf seinen etwaigen N-Gehalt geprüft, aber als vollständig stickstofffrei gefunden. Es ergaben sich folgende Resultate in bezug auf den N-Gehalt nach einer dreitägigen Autolyse:

1.	100 g Leber + 20 g Gummi	0,7308 g N.
	Kontrollversuch	0,630
2.	100 g Leber + 25 g Gummi	0,658
	Kontrollversuch	0,567
3.	100 g Leber + 50 g Gummi	0,777
	Kontrollversuch	0,644

Es ergab sich also, daß in allen 3 Fällen eine Beförderung der Autolyse stattgefunden hat.

Ähnliche Resultate fanden sich auch bei Zusatz von Dextrose, Dextrin und Milchzucker, nämlich:

1.	100 g Leber + 50 g Dextrose	0,924 g N.
	Kontrollversuch	0,707
2.	100 g Leber + 50 g Dextrose	0,588
	Kontrollversuch	0,532
3.	100 g Leber + 50 g Milchzucker	0,546
	Kontrollversuch	0,525
4.	100 g Leber + 50 g Dextrin	0,567
	Kontrollversuch	0,525
5.	100 g Leber + 50 g Dextrin	0,546
	Kontrollversuch	0,525

Es ergibt sich hier wieder in allen Fällen eine Beförderung der Autolyse. Die Kohlehydrate scheinen also diesen befördernden Einfluß auf die Autolyse auszuüben.

Schließlich wurde noch der Zusatz von Neutralsalzen zu der Autolyse, nämlich NaCl, KCl und NH_4Cl in einigen Fällen

geprüft. Es ergaben sich hierbei in einer Reihe von Versuchen keine irgendwie nennenswerte Unterschiede, so daß weder von einer Förderung noch einer Hemmung der Autolyse durch dieselben gesprochen werden konnte. Es ist dies insofern eigenartig, als bei der Hefe autolyse Neutralsalzlösungen nach Buchner einen stark befördernden Einfluß haben.

Literatur.

- Salkowski, Zeitschrift für klin. Medizin, 17, Suppl.
Jacoby, Diese Zeitschr., 1900.
Hahn u. Gehret, Zeitschrift für Biologie, Bd. 40.
Kutscher, Sitzungsberichte der Gesellschaft zur Beförderung der Naturwissenschaften, Juni 1900.
Schütz, Beiträge zur chem. Physiologie 1903.
Buchner, Die Zymasegährung, 1903.
Fischer, Diese Zeitschr., Bd. XIX.
Gonnermann, Pflügers Archiv, Bd. 59.
Spiro, Diese Zeitschrift, 1899.