

# Über den Einfluß von Säuren und Alkalien auf die Autolyse bei Anwendung verschiedener Antiseptica.

Von

Dr. M. Kaschiwabara aus Takamatsu in Japan.

(Aus der chem. Abteilung des pathologischen Instituts der Universität Berlin.)  
(Der Redaktion zugegangen am 25. Juni 1913.)

Von einer Reihe von Autoren — es seien erwähnt Schwiening,<sup>1)</sup> Hedin und Rowland,<sup>2)</sup> Levene und Stockey,<sup>3)</sup> Wiener,<sup>4)</sup> Baer und Loeb,<sup>5)</sup> Hedin,<sup>6)</sup> Drjewezki,<sup>7)</sup> Preti,<sup>8)</sup> Hildebrand<sup>9)</sup> — ist übereinstimmend festgestellt worden, daß Alkalien die Autolyse speziell die Proteolyse durch die intracellularen Gewebsfermente stören, bei stärkerem Zusatz sogar aufheben, während wiederum von einer großen Anzahl von Forschern ermittelt ist, daß Säuren innerhalb gewisser Konzentrationen die Autolyse befördern, so von Biondi,<sup>10)</sup> Baer und Loeb,<sup>5)</sup> Hedin,<sup>6)</sup> Arinkin,<sup>11)</sup> Yoshimoto.<sup>12)</sup> Alle diese Autoren haben bei ihren Versuchen Chloroform oder Toluol als Antisepticum gebraucht. Nachdem nun im hiesigen Laboratorium gefunden war, daß unter dem Einfluß anderer Antiseptica die Autolyse unter Umständen weit energischer verläuft, als bei Anwendung von Chloroformwasser, war es notwendig, auch für diese den Einfluß von Alkalien und Säuren zu untersuchen. Dies ist der Gegenstand der folgenden Untersuchungen, die ich auf Veranlassung von Prof. E. Salkowski ausgeführt habe.

<sup>1)</sup> Virchows Archiv, Bd. 136, S. 444 (1894).

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 32, S. 531 (1901).

<sup>3)</sup> Referat in Biochem. Zentralblatt (1904), S. 119.

<sup>4)</sup> Zentralblatt für Physiologie, Bd. 19, S. 349 (1905).

<sup>5)</sup> Archiv für experiment. Pathol. u. Pharmakol., Bd. 53 (1905).

<sup>6)</sup> Festschrift für Hammarsten, Upsala 1906.

<sup>7)</sup> Biochem. Zeitschrift, Bd. 1, S. 229 (1906).

<sup>8)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 53, S. 485.

<sup>9)</sup> Hofmeisters Beiträge, Bd. 5, S. 493 (1904).

<sup>10)</sup> Virchows Archiv, Bd. 154, S. 373 (1896).

<sup>11)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 54, S. 192.

<sup>12)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 58, S. 341.

Es wurden zunächst die Versuche unter Anwendung von Chloroformwasser wiederholt.

Es wurden folgende Mischungen angesetzt:

A. 285 ccm Chloroformwasser + 15 ccm Wasser.

B. 285 ccm Chloroformwasser + 9 ccm Wasser + 6 ccm 10%ige  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung.

C. 285 ccm Chloroformwasser + 15 ccm 10%ige  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung.

Jede der Lösungen hat dann ein Volumen von 300 ccm; B stellt 0,2%ige Lösung von  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dar, C ein 0,5%ige. — In jedes Glas bringt man 30 g feingehackte Leber, schüttelt gut durch, stellt die Gläser in den Thermostaten und läßt sie darin 70—72 Stunden. Zur Kontrolle rührt man 30 g Leber in einer Schale mit 300 ccm Wasser an und kocht zur Entfernung des gelösten Eiweißes unter Zusatz von 3 g Monokaliumphosphat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) auf. Nach dem Kochen läßt man völlig erkalten, bringt das Ganze samt dem gekochten Leberbrei in einen Meßzylinder, füllt mit Wasser auf 400 ccm auf, sorgt für gleichmäßige Durchmischung (am besten durch Umgießen in ein trockenes Gefäß), filtriert durch ein trockenes Filter in ein trockenes Gefäß. In 100 ccm des Filtrates bestimmt man den N nach Kjeldahl unter Beigabe von  $\text{HgO}$ , entweder direkt oder nach vorherigem Eindampfen auf etwa 30—50 ccm. Ebenso verfährt man mit der Mischung A nach 70—62stündiger Digestion. Die Mischung B, welche stark alkalisch reagiert, wird beim Kochen mit Essigsäure neutralisiert und dann 3 g Monokaliumphosphat zugesetzt. Ebenso verfährt man mit der Mischung C.

Es wurden 25 ccm  $n/5$ -Säure vorgelegt und mit  $n/10$ - oder  $n/5$ -Lauge zurücktitriert. Die Differenz zwischen dem Stickstoffgehalt des Filtrates der gekochten Mischung und den Filtraten der bebrüteten Mischungen ist der Ausdruck für die Quantität des bei der Autolyse in Lösung gegangenen Eiweißes.

Tabelle I. Gesättigtes Chloroformwasser.

Nr. des Versuchs	Kalbs-leber in g		$1/5$ -n- $\text{H}_2\text{SO}_4$ verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
A	30	285 ccm gesättigtes Chloroformwasser + 15 ccm Wasser	21,3	7,952
B	30	285 ccm gesättigtes Chloroformwasser + 9 ccm Wasser + 6 ccm 10%ige $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung	11,6	4,336
C	30	285 ccm gesättigtes Chloroformwasser + 15 ccm 10%ige $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung	10,0	3,733
Kontrolle	30	300 ccm Wasser direkt gekocht	9,0	3,360

Tabelle II. Gesättigtes Chloroformwasser.

Nr. des Versuchs	Kalb-leber in g		$\frac{1}{5}$ -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
A	30	285 ccm gesättigtes Chloroformwasser + 15 ccm Wasser	19,4	7,242
B	30	285 ccm gesättigtes Chloroformwasser + 9 ccm Wasser + 6 ccm 10%ige Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> -Lösung	11,5	4,293
C	30	285 ccm gesättigtes Chloroformwasser + 15 ccm 10%ige Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> -Lösung	9,7	3,621
Kontrolle	30	300 ccm Wasser direkt gekocht	8,5	3,173

Tabelle III. Gesättigtes Chloroformwasser.

Nr. des Versuchs	Kalb-leber in g		$\frac{1}{5}$ -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
A	30	285 ccm gesättigtes Chloroformwasser + 15 ccm Wasser	21,7	8,101
B	30	285 ccm gesättigtes Chloroformwasser + 9 ccm Wasser + 6 ccm 10%ige Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> -Lösung	12,6	4,704
C	30	285 ccm gesättigtes Chloroformwasser + 15 ccm 10%ige Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> -Lösung	12,4	4,333
Kontrolle	30	300 ccm Wasser	8,4	3,136

Bakteriologische Untersuchung.

Tabelle I. 8./II. geimpft.

	9./II.	10./II.	11./II.	12./II.	13./II.	14./II.	15./II.
A	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—
C	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle II. 6./II. geimpft.

	7./II.	8./II.	9./II.	10./II.	11./II.	12./II.	13./II.
A	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—
C	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle III. 3./V. geimpft.

	4./V.	5./V.	6./V.	7./V.	8./V.	9./V.	10./V.
A	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—
C	—	—	—	—	—	—	—

Aus den Tabellen ergibt sich somit 1. daß auch bei alkalischer Reaktion die mit Chloroformwasser angesetzten Mischungen vollkommen steril bleiben, 2. daß in Übereinstimmung mit den vorliegenden Angaben ein Gehalt der Mischungen von 0,2%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , die Autolyse resp. die Proteolyse stark hemmt, ein Gehalt von 0,5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , ganz aufhebt oder aufs äußerste behindert.

## Versuche mit Senfölwasser.

Das Senföl löst sich ziemlich schwer im Wasser. Ca. 5 g ganz frisches Senföl werden mit 1 l destilliertem Wasser in einer Schüttelmaschine eine Stunde lang geschüttelt. Dann wird durch ein trockenes Filter filtriert und das klare Filtrat als solches und in Verdünnungen von  $\frac{1}{2}$  als Autolyseflüssigkeit gebraucht. Im übrigen ist das Verfahren ebenso wie mit Chloroformwasser.

Tabelle IV. Gesättigtes Senfölwasser.

Nr. des Versuches	Kalbsleber in g		$\frac{1}{6}$ -N- $\text{H}_2\text{SO}_4$ verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
A	30	285 ccm gesättigtes Senfölwasser + 15 ccm Wasser	19,2	7,168
B	30	285 ccm gesättigtes Senfölwasser + 9 ccm Wasser + 6 ccm 10%ige $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung	15,2	5,674
C	30	285 ccm gesättigtes Senfölwasser + 15 ccm 10%ige $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung	17,2	6,421
Kontrolle	30	300 ccm Wasser	8,1	3,024

**Bakteriologische Untersuchung. 9./V. geimpft.**

	10./V.	11./V.	12./V.	13./V.	14./V.	15./V.	16./V.
A	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—
C	+	+	+	+	+	+	+

**Tabelle V. Gesättigtes Senfölwasser.**

Nr. des Versuches	Kalbsleber in g		$\frac{1}{5}$ -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
A	30	285 ccm gesättigtes Senfölwasser + 15 ccm Wasser	17,4	6,496
B	30	285 ccm gesättigtes Senfölwasser + 9 ccm Wasser + 6 ccm 10%ige Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> -Lösung	12,3	4,725
C	30	285 ccm gesättigtes Senfölwasser + 15 ccm 10%ige Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> -Lösung	13,7	5,114
Kontrolle	30	300 ccm Wasser	6,4	2,389

**Bakteriologische Untersuchung. 6./V. geimpft.**

	7./V.	8./V.	9./V.	10./V.	11./V.	12./V.	13./V.
A	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—
C	+	+	+	+	+	+	+

**Tabelle VI. Halbgesättigtes Senfölwasser.**

Nr. des Versuches	Kalbsleber in g		$\frac{1}{5}$ -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
A	30	285 ccm halbgesättigtes Senfölwasser + 15 ccm Wasser	42,6	15,904
B	30	285 ccm halbgesättigtes Senfölwasser + 9 ccm Wasser + 6 ccm 10%ige Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> -Lösung	29,9	11,029
C	30	285 ccm halbgesättigtes Senfölwasser + 15 ccm 10%ige Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> -Lösung	12,3	4,592
Kontrolle	30	300 ccm Wasser	9,5	3,546

## Bakteriologische Untersuchung. 7./V. geimpft.

	8./V.	9./V.	10./V.	11./V.	12./V.	13./V.	14./V.
A	—	—	—	—	—	—	—
B	—	+	+	+	+	+	+
C	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle VII. Halbgesättigtes Senföwasser.

Nr. des Versuches	Kalbsleber in g		$\frac{1}{5}$ -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
A	30	285 ccm halbgesättigtes Senföwasser + 15 ccm Wasser	30,0	11,200
B	30	285 ccm halbgesättigtes Senföwasser + 9 ccm Wasser + 6 ccm 10%ige Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> -Lösung	19,1	7,130
C	30	285 ccm halbgesättigtes Senföwasser + 15 ccm 10%ige Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> -Lösung	10,0	3,733
Kontrolle	30	300 ccm Wasser	8,1	3,024

## Bakteriologische Untersuchung. 9./V. geimpft.

	10./V.	11./V.	12./V.	13./V.	14./V.	15./V.	16./V.
A	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	+	+	+	+	+
C	+	+	+	+	+	+	+

Aus den Versuchen mit gesättigtem Senföwasser ergibt sich, wie die Durchsicht der Tabellen lehrt:

1. Daß nur Mischungen mit geringerem Alkaligehalt (0,2% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) steril geblieben sind, die mit stärkerem Gehalt dagegen nicht, indem offenbar eine stärkere Alkaleszenz die Entwicklung von Fäulnisbakterien begünstigt, 2. daß der hemmende Einfluß des Alkali auch bei Anwendung von Senföwasser deutlich bemerkbar ist. Die Mischungen mit stärkerem Alkaligehalt kommen für die vorliegende Frage nicht in Betracht, da hier die Hydrolyse des Eiweißes zum Teil durch Fäulnisbakterien bewirkt ist.

## Versuche über den Einfluß von Säure.

Als Säure wurde Schwefelsäure gewählt und zwar diejenige Konzentration, welche sich in den Versuchen von Arinkin als Optimum ergeben hatte. Um die Verhältnisse möglichst gleichmäßig zu gestalten, wurden die autolytischen Mischungen beim Erhitzen zum Sieden zuerst mit Natriumcarbonat neutralisiert und dann 3 g Monokaliumphosphat hinzugesetzt. Bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl, die ebenso ausgeführt wurde, wie in den früheren Versuchen, mußte bedeutend mehr Säure vorgelegt werden, nämlich 40—50 ccm  $n/5$ -Säure. Auch bei diesen Versuchen erschien es zweckmäßig, zuerst eine Mischung mit Chloroformwasser anzusetzen.

Tabelle VIII. Gesättigtes Chloroformwasser.

Nr. des Versuches	Kalb-leber in g		$n/5$ -H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
A	30	291 ccm gesättigtes Chloroformwasser + 9 ccm Wasser	21,5	8,026
B	30	291 ccm gesättigtes Chloroformwasser + 9 ccm $n/5$ -Schwefelsäure	43,8	16,352
Kontrolle	30	300 ccm Wasser	10,0	3,733

## Bakteriologische Untersuchung. 25./I. geimpft.

	26./I.	27./I.	28./I.	29./I.	30./I.	31./I.	1./II.
A	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle IX. Gesättigtes Senföwasser.

Nr. des Versuches	Kalb-leber in g		$n/5$ -H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
A	30	291 ccm gesättigtes Senföwasser + 9 ccm Wasser	27,3	10,192
B	30	291 ccm gesättigtes Senföwasser + 9 ccm $n/5$ -Schwefelsäure	32,7	12,208
Kontrolle	30	300 ccm Wasser	11,08	4,136

## Bakteriologische Untersuchung. 2./II. geimpft.

	3./II.	4./II.	5./II.	6./II.	7./II.	8./II.	9./II.
A	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle X. Gesättigtes Senföhlwasser.

Nr. des Versuches	Kalbsleber in g		$\frac{1}{5}$ -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
A	30	291 ccm gesättigtes Senföhlwasser + 9 ccm Wasser	22,8	8,512
B	30	291 ccm gesättigtes Senföhlwasser + 9 ccm $\frac{n}{2}$ -Schwefelsäure	29,2	10,901
Kontrolle	30	300 ccm Wasser	11,6	4,336

## Bakteriologische Untersuchung. 9./II. geimpft.

	10./II.	11./II.	12./II.	13./II.	14./II.	15./II.	16./II.
A	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XI. Halbgesättigtes Senföhlwasser.

Nr. des Versuches	Kalbsleber in g		$\frac{1}{5}$ -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
A	30	291 ccm halbgesättigtes Senföhlwasser + 9 ccm Wasser	24,8	9,258
B	30	291 ccm $\frac{1}{2}$ % iges Senföhlwasser + 9 ccm $\frac{n}{2}$ -Schwefelsäure	32,9	12,282
Kontrolle	30	300 ccm Wasser	9,5	3,546



## Bakteriologische Untersuchung. 5./II. geimpft.

	6./II.	7./II.	8./II.	9./II.	10./II.	11./II.	12./II.
A	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XII. Halbgesättigtes Senfölwasser.

Nr. des Versuches	Kalb-leber in g		$\frac{1}{5}$ -n- $H_2SO_4$ verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
A	30	291 ccm $\frac{1}{2}$ % iges Senfölwasser + 9 ccm Wasser	30,0	11,200
B	30	291 ccm $\frac{1}{2}$ % iges Senfölwasser + 9 ccm $\frac{1}{2}$ -Schwefelsäure	33,5	12,506
Kontrolle	30	300 ccm Wasser	10,0	3,733

## Bakteriologische Untersuchung. 12./II. geimpft.

	13./II.	14./II.	15./II.	16./II.	17./II.	18./II.	19./II.
A	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—

Aus den Versuchen mit Schwefelsäure geht hervor, daß auch bei Anwendung von Senfölwasser die Säure die Autolyse resp. Proteolyse befördert, wenn auch die befördernde Wirkung nicht so stark hervortritt, wie in den früheren Versuchen von Arinkin. Dies liegt daran, daß im allgemeinen die Quantität des nicht koagulierbaren Stickstoffs bei Anwendung von Senfölwasser größer ist, als bei Chloroformwasser. Die befördernde Wirkung tritt dementsprechend naturgemäß nicht so stark hervor. Man könnte wohl die Frage aufwerfen, ob es sich in den angesäuerten Mischungen überhaupt noch um die Wirkung des Gewebsfermentes handelt und nicht vielmehr um einfache Säurehydrolyse. Direkte Versuche hierüber erscheinen nicht wohl möglich, so lange wir nicht Mittel und Wege kennen,

um die Gewebsfermente abzutöten, ohne die physikalische Beschaffenheit der Gewebe von Grund aus zu ändern, indessen spricht der Umstand, daß es nach den Versuchen von Arinkin ein Optimum der Säurewirkung bei der Autolyse gibt, d. h. eine Steigerung des Säuregehalts über ein gewisses Maximum hinaus die Quantität des nicht koagulierbaren N herabsetzt, doch gegen die Annahme einer einfachen Säurehydrolyse, denn in diesem Fall wäre wohl zu erwarten, daß mit Steigerung der Acidität auch die Quantität des nicht koagulierbaren N zunimmt.

### Die Autolyse unter dem Einflusse von Formaldehydlösung.

Kikkoji studierte die Autolyse unter dem Einflusse von Formaldehydlösung und fand dabei, daß das Optimum bei der  $\frac{1}{32}$  ige Lösung liegt. Ich untersuchte die Verhältnisse noch einmal auf den Rat des Herrn Prof. E. Salkowski. Die käufliche Formaldehydlösung enthält bekanntlich ca. 40% Formaldehyd und reagiert oft sauer. Ich neutralisierte 25 ccm Formaldehydlösung mit Natriumcarbonat, verdünnte mit destilliertem Wasser, füllte auf 1 l auf und mischte. Diese Lösung enthält etwa 1% Formaldehyd. Aus dieser Stammlösung wurden folgende 4 weitere verdünnte Formaldehydlösungen hergestellt.

1.  $\frac{1}{2}$  ige Formaldehydlösung.
2.  $\frac{1}{8}$  ige                    >
3.  $\frac{1}{16}$  ige                    >
4.  $\frac{1}{32}$  ige                    >

Tabelle XIII. Formaldehydversuch.

Nr. des Versuches	Kalbsleber in g		$\frac{1}{5}$ -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
A	30	300 ccm $\frac{1}{32}$ ige Formaldehydlösung	8,5	3,173
B	30	300 > $\frac{1}{8}$ >	20,3	7,475
C	30	300 > $\frac{1}{16}$ >	32,5	12,133
D	30	300 > $\frac{1}{32}$ >	46,0	17,173
Kontr.	30	300 > Wasser	9,2	3,434

Bakteriologische Untersuchung. 3./II. geimpft.

	4./II.	5./II.	6./II.	7./II.	8./II.	9./II.	10./II.
A	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—
C	—	—	—	—	—	—	—
D	—	—	—	+	+	+	+

Es ist ersichtlich, daß es im Versuche D ( $1/33^0/0$ ige Lösung) zu Bakterienentwicklung gekommen ist.

Tabelle XIV.  $1/16^0/0$ ige Formaldehydlösung.

Nr. des Versuches	Kalbsleber in g		$1/5$ -n- $H_2SO_4$ verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
A	30	285 ccm $1/16^0/0$ iger Formaldehydlösung + 15 ccm Wasser	28,5	10,640
B	30	285 ccm $1/16^0/0$ iger Formaldehydlösung + 9 ccm Wasser + 6 ccm $10^0/0$ ige $Na_2CO_3$ -Lösung	13,8	5,152
C	30	285 ccm $1/16^0/0$ iger Formaldehydlös. + 15 ccm $10^0/0$ ige $Na_2CO_3$ -Lösung	12,9	4,816
Kontrolle	30	300 ccm Wasser	8,8	3,285

Bakteriologische Untersuchung. 16./III. geimpft.

	17./III.	18./III.	19./III.	20./III.	21./III.	22./III.	23./III.
A	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—
C	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XV.  $1/16^0/0$ ige Formaldehydlösung.

Nr. des Versuches	Kalbsleber in g		$1/5$ -n- $H_2SO_4$ verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
A	30	291 ccm $1/16^0/0$ ige Formaldehydlösung + 9 ccm Wasser	28,6	10,677
B	30	291 ccm $1/16^0/0$ ige Formaldehydlösung + 9 ccm $n/5$ -Schwefelsäure	33,4	12,469
Kontrolle	30	300 ccm Wasser	8,8	3,285

## Bakteriologische Untersuchung. 16./III. geimpft.

	17./III.	18./III.	19./III.	20./III.	21./III.	22./III.	23./III.
A	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—

Auch bei Anwendung von Formaldehyd tritt die befördernde Wirkung der Säure, die hemmende des Alkalis deutlich hervor.

Da der bakteriologische Befund mit der  $\frac{1}{32}$ -Lösung mit den Angaben von Kikkoji nicht übereinstimmte, wurden die Versuche mit dieser Lösung nochmals angestellt.

Tabelle XVI.  $\frac{1}{32}$ °ige Formaldehydlösung.

Nr. des Versuches	Kalbsleber in g		$\frac{1}{5}$ -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
A	30	300 ccm $\frac{1}{32}$ °ige Formaldehydlösung	35,2	13,141
B	30	300 „ „ „	35,4	13,216
Kontrolle	30	300 „ Wasser	7,7	2,874

## Bakteriologische Untersuchung. 4./VI. geimpft.

	5./VI.	6./VI.	7./VI.	8./VI.	9./VI.	10./VI.	11./VI.
A	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XVII.  $\frac{1}{32}$ °ige Formaldehydlösung + Säure.

Nr. des Versuches	Kalbsleber in g		$\frac{1}{5}$ -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
A	30	291 ccm $\frac{1}{32}$ °ige Formaldehydlösung + 9 ccm H <sub>2</sub> O	35,8	13,365
B	30	291 ccm $\frac{1}{32}$ °ige Formaldehydlösung + 9 ccm $\frac{n}{2}$ -Schwefelsäure	42,7	15,941
Kontrolle	30	300 ccm Wasser	7,7	2,874

Bakteriologische Untersuchung. 4./VI. geimpft.

	5./VI.	6./VI.	7./VI.	8./VI.	9./VI.	10./VI.	11./VI.
A	—	—	—	—	—	—	—
B	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XVIII.  $\frac{1}{32}$ °ige Formaldehydlösung + Alkali.

Nr. des Versuches	Kalbsleber in g		$\frac{1}{5}$ -n- $H_2SO_4$ verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
A	30	285 ccm $\frac{1}{32}$ °ige Formaldehydlösung + 15 ccm $H_2O$	33,0	12,320
B	30	285 ccm $\frac{1}{32}$ °ige Formaldehydlösung + 9 ccm Wasser + 6 ccm 10°ige $Na_2CO_3$ -Lösung	18,6	6,944
C	30	285 ccm $\frac{1}{32}$ °ige Formaldehydlösung + 15 ccm 10°ige $Na_2CO_3$ -Lösung	12,0	4,480
Kontrolle	30	300 ccm Wasser	8,1	3,024

Bakteriologische Untersuchung. 8./VI. geimpft.

	9./VI.	10./VI.	11./VI.	12./VI.	13./VI.	14./VI.	15./VI.
A	—	—	—	—	—	—	—
B	+	+	+	+	+	+	+
C	+	+	+	+	+	+	+

Wie aus den Tabellen ersichtlich ist, blieben die Mischungen mit  $\frac{1}{32}$ -Formaldehyd allein diesmal steril — es muß wohl in den früheren Versuchen ein Fehler beim Überimpfen untergelaufen sein —, bemerkenswerterweise aber war Sterilität nicht zu erzielen in den mit Alkali versetzten Mischungen, augenscheinlich deshalb, weil durch die alkalische Reaktion günstigere Lebensbedingungen für die Fäulnisbakterien gesetzt waren.

Es sollte nun noch versucht werden, ob das Optimum der Säurewirkung bei Anwendung von Formaldehydlösung dasselbe ist, wie es Arinkin<sup>1)</sup> bei Chloroformwasser fand.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 53, S. 192.

Tabelle XIX.

Nr. des Versuches	Kalbsleber in g		$\frac{1}{5}$ -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
A	30	300 ccm $\frac{1}{16}$ %ige Formaldehydlösung	36,4	13,586
B	30	300 „ „ „ „ „ „ + 9,24 ccm Normalschwefelsäure	39,8	14,858
C	30	300 ccm $\frac{1}{16}$ %ige Formaldehydlösung + 4,62 ccm Normalschwefelsäure	43,0	16,053
D	30	300 ccm $\frac{1}{16}$ %ige Formaldehydlösung + 2,31 ccm Normalschwefelsäure	40,2	15,008

Nach Beendigung der Autolyse wurden die mit Schwefelsäure versetzten Gemische durch eine entsprechende Quantität einer Normallösung von Natriumhydrat neutralisiert und dann unter Zusatz von 1% Monokaliumphosphat gekocht, wie Arinkin verfuhr. Die zugesetzte Quantität von Säuren in  $\frac{1}{16}$  %iger Formaldehydlösung waren dieselbe wie bei Arinkin mit Chloroformwasser.

Aus Tabelle XIX ist zu ersehen, daß das Optimum für N-Schwefelsäure 4,62 ccm (für 100 g Leber  $4,62 \times 10/3 = 15,4$  ccm) bei derselben Konzentration gefunden wurde, wie von Arinkin mit Chloroformwasser.

Der Verlauf der Autolyse im einzelnen unter Anwendung von Formaldehyd ist noch nicht untersucht worden. Die folgenden Versuche behandeln diese Frage.

### Allgemeine Versuchsanordnung.

Es wurden 2 Mischungen angestellt.

A. In einer 1,5 l fassenden weithalsigen Glasstöpselflasche wurden 100 g feingehackte frische Kalbsleber mit 1 l Chloroformwasser gut durchgemischt.

B. Dasselbe geschah mit  $\frac{1}{16}$  %iger Formaldehydlösung.

Die beiden Flaschen wurden dann gleichzeitig in einen auf 39–40° gehaltenen Thermostaten 70 Stunden lang unter zeitweiligem Umschütteln gestellt. Nach 70 Stunden wurde der Inhalt der beiden Flaschen A und B, welcher schwach sauer reagierte, zum Sieden erhitzt zur Entfernung des gelösten Eiweißes unter Zusatz von ca. 10 g Monokaliumphosphat.

Nach dem Abkühlen wurden die Mengen auf je 1 l (einschließlich fester Substanz) mit destilliertem Wasser aufgefüllt und durch ein

trockenes Filter in einem Meßzylinder von 800 ccm Inhalt filtriert. Das Filtrat wurde auf dem Wasserbade auf etwas weniger als 400 ccm eingedampft, in einem Meßkolben von 400 ccm quantitativ aufgefüllt und wiederum durch ein trockenes Filter filtriert. Auf diese Weise wurde eine von koagulierbaren Substanzen freie Lösung erhalten und zwar in A nach gewöhnlicher Autolyse, in B nach einer in derselben Zeit mit  $\frac{1}{16}$  iger Formaldehydlösung verlaufenen Autolyse.

Alle Abmessungen zur Analyse geschahen mit Meßpipetten.

Es wurde bestimmt:

1. Gesamtstickstoff in 20 ccm der Lösung unter Anwendung von Quecksilberoxyd nach Kjeldahl, doppelt ausgeführt.

2. Monoaminosäurenstickstoff 50 ccm der Lösung mit 5 ccm Salzsäure angesäuert und darauf eine 10%ige Phosphorwolframsäurelösung so lange zugesetzt, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Die Mischung auf 100 ccm (samt Niederschlag) aufgefüllt, durch ein trockenes Filter filtriert, vom Filtrat 20 ccm zur Bestimmung des Stickstoffes nach Kjeldahl.

3. Albumosenstickstoff: 50 ccm der Lösung mit 1 ccm verdünnter Schwefelsäure angesäuert, mit gepulvertem Zinksulfat gesättigt nach Baumann und Bömer.<sup>1)</sup> Das Gemisch wurde nach den Angaben von E. Rosenberg 24 Stunden lang stehen gelassen, filtriert, der Niederschlag mit angesäuerter Zinksulfatlösung gut ausgewaschen, etwas trocken gelassen, dann in Kjeldahl-Kolben mit Schwefelsäure erhitzt. Die Erhitzung ließ sich gut zu Ende führen.

4. Purinbasenstickstoff: 100 ccm der Lösung wurden mit Ammoniak leicht alkalisiert, von den ausgeschiedenen Phosphaten abfiltriert und nachgewaschen, das Filtrat unter weiterem Zusatz von Ammoniak mit 3%iger Silbernitratlösung gefällt. Nach 10—12stündigem Stehen im Dunkeln wurde abfiltriert, der Niederschlag gut ausgewaschen, trocken gelassen, dann samt Filter kjeldahlisiert.

Alle Zahlen wurden auf 1 kg Leber umgerechnet. Die Differenz zwischen dem Gesamtstickstoff und der Summe von 2, 3 und 4 ergibt den Stickstoff von Diaminosäuren + Pepton + Ammoniak.

Das beschriebene Verfahren wurde von Prof. E. Salkowski angegeben, zuerst von Drjewecki,<sup>2)</sup> später von Yoshimoto,<sup>3)</sup> Kikkoji,<sup>4)</sup> Ascoli und Izar<sup>5)</sup> angewendet.

<sup>1)</sup> Vgl. Zunz, Diese Zeitschrift, Bd. 27, S. 219; E. Salkowski, Biochem. Zeitschrift, Bd. 32, S. 351, und E. Rosenberg, Zeitschrift für klin. Medizin, Bd. 76, S. 1.

<sup>2)</sup> Biochem. Zeitschrift, Bd. 1, S. 229.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 58, S. 341.

<sup>4)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 63, S. 109.

<sup>5)</sup> Biochem. Zeitschrift Bd. 17, S. 362.

Die Resultate der Versuche sind in folgenden Tabellen enthalten.

Tabelle XX.

Auf 1 kg Leber umgerechnet	A mit Chloroformwasser	B mit $\frac{1}{16}$ % iger Formaldehydlösung
Gesamt-N . . . . .	7,140	10,416
Monoaminosäuren-N . . . . .	5,432	7,408
Albumosen-N . . . . .	0,181	0,168
Purinbasen-N . . . . .	1,014	0,980
Diaminosäuren- + Pepton- + $\text{NH}_3$ -N	0,513	0,860

Tabelle XXI.

Auf 1 kg Leber umgerechnet	A mit Chloroformwasser	B mit $\frac{1}{16}$ % iger Formaldehydlösung
Gesamt-N . . . . .	6,020	8,568
Monoaminosäuren-N . . . . .	4,562	6,284
Albumosen-N . . . . .	0,101	0,045
Purinbasen-N . . . . .	0,642	0,638
Diaminosäuren- + Pepton- + $\text{NH}_3$ -N	0,715	1,601

Tabelle XXII.

Auf 1 kg Leber umgerechnet	A mit Chloroformwasser	B mit $\frac{1}{16}$ % iger Formaldehydlösung
Gesamt-N . . . . .	5,278	9,170
Monoaminosäuren-N . . . . .	4,200	6,440
Albumosen-N . . . . .	0,090	0,078
Purinbasen-N . . . . .	0,829	0,784
Diaminosäuren- + Pepton- + $\text{NH}_3$ -N	0,159	1,868



Tabelle XXIII.

Auf 1 kg Leber umgerechnet	A mit Chloroformwasser	B mit $\frac{1}{16}$ %iger Formaldehydlösung
Gesamt-N . . . . .	5,712	7,000
Monoaminosäuren-N . . . . .	4,592	4,984
Albumosen-N . . . . .	0,176	0,157
Purinbasen-N . . . . .	0,588	0,560
Diaminosäuren-+Pepton-+NH <sub>3</sub> -N	0,356	1,299

Tabelle XXIV.

Auf 1 kg Leber umgerechnet	A mit Chloroformwasser	B mit $\frac{1}{16}$ %iger Formaldehydlösung
Gesamt-N . . . . .	7,182	9,072
Monoaminosäuren-N . . . . .	5,040	6,720
Albumosen-N . . . . .	0,112	0,101
Purinbasen-N . . . . .	0,780	0,769
Diaminosäuren-+Pepton-+NH <sub>3</sub> -N	1,250	1,482

Tabelle XXV.

Nr. des Versuches	Gesamt-N mit Chloroformwasser	B mit $\frac{1}{16}$ %iger Formaldehydlösung
I	7,140	10,416
II	6,020	8,568
III	5,278	9,170
IV	5,712	7,000
V	7,182	9,072

Tabelle XXVI.

Nr. des Versuches	Monoaminosäuren-N mit Chloroformwasser	B mit $\frac{1}{16}$ %iger Formaldehydlösung
I	5,432	7,408
II	4,562	6,284
III	4,200	6,440
IV	4,592	4,984
V	5,040	6,720

Tabelle XXVII. Albumosen-N.

Nr. des Versuches	A mit Chloroform- wasser	B mit $\frac{1}{16}$ % iger Form- aldehydlösung
I	0,181	0,168
II	0,101	0,045
III	0,090	0,078
IV	0,176	0,157
V	0,112	0,101

Tabelle XXVIII. Purinbasen-N.

Nr. des Versuches	A mit Chloroform- wasser	B mit $\frac{1}{16}$ % iger Form- aldehydlösung
I	1,014	0,980
II	0,642	0,638
III	0,829	0,784
IV	0,588	0,560
V	0,780	0,769

Tabelle XXIX. Diaminosäuren- + Pepton- +  $\text{NH}_3$ -N.

Nr. des Versuches	A mit Chloroform- wasser	B mit $\frac{1}{16}$ % iger Form- aldehydlösung
I	0,513	1,860
II	0,715	1,601
III	0,159	1,868
IV	0,356	1,299
V	1,256	1,482

Tabelle XXX. Mittelzahl von 5 Versuchen.

Auf 1 kg umgerechnet	A mit Chloroform- wasser	B mit $\frac{1}{16}$ % iger Form- aldehydlösung
Gesamt-N . . . . .	6,266	8,855
Monoaminosäuren-N . . . . .	4,765	6,607
Albumosen-N . . . . .	0,132	0,110
Purinbasen-N . . . . .	0,771	0,746
Diaminosäuren-, Pepton- u. $\text{NH}_3$ -N	0,598	1,162

Aus den Tabellen ergibt sich, daß die Steigerung, welche die einzelnen Gruppen der Spaltungsprodukte bei der Formaldehydautolyse gegenüber der Chloroformwasserautolyse erfahren, keine gleichmäßige ist, ja der Albumosen-N sogar eine Verminderung erfährt.

Die Einzelheiten gehen am besten aus der folgenden Zusammenstellung hervor. Setzt man die bei der Chloroformwasserautolyse erhaltenen Werte gleich 100, so lauten die Zahlen bei der Formaldehydautolyse für

Gesamt-N	141,3
Albumosen-N	83,3
Monoaminosäuren-N	138,6
Purinbasen-N	96
Diaminosäuren-N usw.	194,3.

Die hydrolytische Spaltung des Eiweißes geht also offenbar bei Anwendung von Formaldehydlösung weiter, als bei Chloroformwasser.

---