

Über den Einfluß der Antiseptica bei der Hefeautolyse.

Von

E. Navassart aus Toksani (Rumänien).

(Aus der chem. Abteilung des pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 4. April 1911.)

Bei der Hefeautolyse fand ich, wie bereits berichtet wurde,¹⁾ keine Steigerung dieses Prozesses unter dem Einfluß von HCl sowohl bei größerem wie bei ganz minimalem Gehalt an Salzsäure. Dagegen war schon bei einem Gehalt von 0,14% HCl eine fast vollständige Hemmung eingetreten. Martin Hahn und Ludwig Geret,²⁾ welche die Einflüsse verschiedener Agenzien auf das proteolytische Ferment des Hefepreßsaftes — von ihnen Endotryptase genannt — eingehend studiert haben, fanden dagegen eine Steigerung der Autolyse unter Zusatz von HCl und zwar war bei 0,2% das Optimum der Steigerung eingetreten. Eine Erklärung für dieses verschiedene Verhalten des Preßsaftes und der mit Chloroformwasser digerierten Hefe selbst zu geben, ist zurzeit nicht möglich. Dagegen stimmt das Verhalten des Preßsaftes zu Alkalien mit dem der Hefe in Chloroformwasser überein, in beiden Fällen tritt eine mehr oder weniger erhebliche Hemmung ein.

Auf Veranlassung von E. Salkowski haben nun Yoshimoto³⁾ sowie Kikkoji⁴⁾ eine Anzahl anderer antiseptisch wirkender Substanzen daraufhin untersucht, wie sich unter ihrem Einfluß die Autolyse der Leber in quantitativer Beziehung gestaltet. Es hat sich dabei herausgestellt, daß es nicht gleichgültig ist, welches Antiseptikum man anwendet. Setzt man

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LXX, S. 189.

²⁾ Zeitschrift für Biologie, Bd. XL, S. 170.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LVIII, S. 341 (1908/9).

⁴⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LXIII, S. 109.

den mit Chloroformwasser in Lösung gegangenen Stickstoff gleich 100, so betrug er in den Versuchen von Yoshimoto:

Bei Borsäure	192
» Salicylsäure	234
» Senföhlwasser	181
» Alkohol	138.

Daraus ist zu schließen, daß das autolytische Ferment der Leber durch Chloroform geschädigt wird. Kikkoji fand:

Für Formaldehyd	164
» Benzoesäure	242

immer das Optimum der Wirkung vorausgesetzt, welches für den Formaldehyd bei einer $\frac{1}{64}$ ige Lösung liegt, während 1 ige Lösung die Autolyse überhaupt ausschließt.

Es war nun von Interesse, zu sehen, ob sich die Hefeautolyse auch in dieser Beziehung der Leberautolyse entgegengesetzt verhalte oder so wie die Leberautolyse; auf Veranlassung von Professor E. Salkowski habe ich diese Untersuchung ausgeführt.

Die Untersuchung der «Endotryptase» und Nuclease, sowie die ganze Ausführung der Autolyse geschah in derselben Weise, wie es früher mitgeteilt wurde (l. c.). Der Gesamtstickstoff wurde nach Kjeldahl, die Purinbasen nach Vorgang von Salkowski festgestellt; diese Basen wurden auf Guanin berechnet. Die Werte des Kontrollversuches, wo die Kochung vor der Digestion stattfand, wurde von den im Hauptversuch erhaltenen Werten, d. h. von dem Versuch, wo die Kochung nach der Digestion stattfand, abgezogen und nur diese Werte, welche die durch das Ferment bewirkten Veränderungen darstellen, angegeben. Die Zeitdauer der Aufbewahrung im Thermostaten betrug in allen Versuchen 72 Stunden. Bei jeder Versuchsreihe wurde ein Kontrollversuch angestellt, bei dem die Kochung vor der Digestion stattfand und ein Vergleichsversuch mit Chloroformwasser angestellt. Die bakteriologischen Untersuchungen wurden nur bei denjenigen Substanzen gemacht, für welche keine Angaben vorlagen. Über die erhaltenen Resultate geben die nachfolgenden Tabellen Auskunft.

Tabelle I.
Einfluß von Borsäure.

Ver- such Nr.	Die Quantität von B(OH) ₃ pro 1/2 l		A. Bei CHCl ₃ B. Bei B(OH) ₃ C. Das Verhältnis $\frac{A}{B}$	Infolge der Wirkung des autolytischen Enzyms Gesamt- stickstoff Purinbasen auf 100 g Hefe um- gerechnet	
	g	in ‰		g	g
I	gesättigt		A	1,006	0,221
			B	0,969	0,258
			C	1,038	1,168
II	25	5	A	1,006	0,221
			B	0,895	0,249
			C	1,124	1,137
III	20	4	A	1,006	0,221
			B	0,946	0,237
			C	1,063	1,072
IV	10	2	A	1,006	0,221
			B	0,986	0,229
			C	1,02	1,061

Als Kontrolle wurde mit einer 5 ‰igen Borsäurelösung vor der Digestion gekocht. Bei dem obigen Versuche wurden diejenigen Konzentrationen gewählt, bei welchen keine Bakterien auftreten und die Lösungen ganz steril blieben. Es ist aus dieser Tabelle zu ersehen, daß bei keinem Versuch eine Vermehrung oder Hemmung der Autolyse eintritt; die Wertunterschiede sind so klein, daß sie wohl als Versuchsfehler zu betrachten sind. Bei der Leber findet man dagegen bei einer Konzentration von 5 ‰iger Borsäure eine wesentliche Steigerung der Autolyse. In der nächsten Tabelle werden nur diejenigen Antiseptica und diejenigen Konzentrationen gewählt, bei welchen eine Steigerung in der Autolyse der Leber festgestellt ist und in welchen die Lösungen steril bleiben; außerdem Formaldehyd in einer Konzentration, die jede Autolyse ausschließt.

Tabelle II.

Ver- such Nr.	Einfluß von	Die Quantität der be- treffenden Anti- septica pro $\frac{1}{2}$ l	A. Bei CHCl_3 B. Bei betreffenden Antiseptica C. Das Verhältnis $\frac{A}{B}$		Infolge der Wirkung des autolytischen Enzyms Gesamt- stickstoff Purinbasen auf 100 g Hefe um- gerechnet	
					g	g
I	Benzoe- säure	gesättigt	A		1,041	0,219
			B		1,138	0,234
			C		0,915	0,936
II	Salicyl- säure	gesättigt	A		1,041	0,219
			B		0,989	0,208
			C		1,052	1,053
III	Salicyl- säure	$\frac{1}{2}$ ge- sättigt	A		1,041	0,219
			B		1,101	0,243
			C		0,945	0,901
IV	Form- aldehyd	1 %	A		1,041	0,219
			B		0,006	0,011
			C		173,5	19,46
V	Form- aldehyd	$\frac{1}{32}$ %	A		1,041	0,219
			B		0,984	0,216
			C		1,058	1,014

Zur Kontrolle wurde mit $\frac{1}{32}$ % ige Lösung von Form-
aldehyd vor der Digestion gekocht. Diese Lösung wurde von
der käuflichen Formalinlösung, welche etwa 40 % Formaldehyd
enthält, hergestellt; die saure Reaktion der Formalinlösung
wurde genau mit Na_2CO_3 neutralisiert und 25 ccm von dieser
neutralen Lösung zum Volumen von 1 l gebracht. Diese ver-
dünnte Lösung enthält etwa 1 % Formaldehyd.

Die 1 % ige Formaldehydlösung hemmt vollständig die
Autolyse der Hefezellen. Bei der $\frac{1}{32}$ % igen Konzentration tritt
keine Veränderung ein; dagegen wird die Leberautolyse da-
durch wesentlich beeinflusst, und der Wert des Gesamtstickstoffs
ist 2mal so hoch im Vergleich mit Chloroform, wie Kikkōji
angibt (l. c.).

Was die Benzoesäure betrifft, so blieb nur die gesättigte Lösung steril. Bei der Leberautolyse sind bei dieser Konzentration die Werte 2,4 mal so hoch wie derjenige von Chloroform; dagegen wird das proteolytische Ferment und die Nuclease der Hefe durch Benzoesäure im Vergleich mit Chloroform gar nicht beeinflusst.

Bei der Salicylsäure waren die gesättigten und halbgesättigten Lösungen steril. Das Präparat wurde im Überschuß in heißem Wasser gelöst, nach dem Erkalten längere Zeit geschüttelt, dann filtriert. Es tritt, wie aus der Tabelle zu ersehen ist, keine Veränderung in der Autolyse ein, während für die Leberautolyse Yoshimoto (l. c.) in der angegebenen Konzentration eine beträchtliche Steigerung gefunden hat, und zwar die größte von allen Antiseptica, die er gebraucht hat.

Tabelle III.

Ver- such Nr.	Einfluß von	Die Quantität der be- treffenden Anti- septica pro $\frac{1}{2}$ l	A. Bei CHCl_3		Infolge der Wirkung des autolytischen Enzyms	
			B. Bei betreffenden Antiseptica	C. Das Verhältnis $\frac{A}{B}$	Gesamt- stickstoff auf 100 g. Hefe um- gerechnet g	Purinbasen g
I	Alkohol	5 %	A		1,011	0,197
			B		1,085	0,221
			C		0,932	0,892
II	Alkohol	10 %	A		1,011	0,197
			B		1,048	0,209
			C		0,965	0,943
III	Senföl	$\frac{1}{4}$ ge- sättigt	A		1,011	0,197
			B		1,197	0,265
			C		0,874	0,743
IV	Senföl	gesättigt	A		1,011	0,197
			B		1,013	0,20
			C		0,998	0,985

Als Kontrolle wurde mit einer 10%igen alkoholischen Lösung vor der Digestion gekocht. Eine 5- und 10%ige alko-

holische Lösung läßt die Autolyse unverändert, während beim Preßsaft eine 5%ige Lösung die Proteolyse nach Hahn und Geret schwach, und eine solche von 10%iger erheblich hemmt. In den tierischen Geweben bewirkt eine 5%ige Alkohollösung eine wesentliche Steigerung der Autolyse. Die Senföllösung wurde durch Mischung und Schütteln von 5 g Senföl in 1 l Wasser hergestellt; das überschüssige Öl wurde abfiltriert und von dem Filtrat verschiedene Verdünnungen hergestellt. Die gesättigte Senföllösung übt als solche keine Veränderung in der Hefeautolyse, eine halbgesättigte begünstigte etwas die Nuclease. Es wurden daher noch größere Verdünnungen von $\frac{1}{8}$ und $\frac{1}{16}$ Senföllösung hergestellt, um die Beeinflussung derselben zu untersuchen. Eine gesättigte Senföllösung hindert wesentlich im Vergleich mit Chloroform die Leberautolyse.

Tabelle IV.

Ver- such Nr.	Einfluß von	Die Quantität der be- treffenden Anti- septica pro $\frac{1}{2}$ l	A. Bei Chloroform B. Bei betreffenden Antiseptica C. Das Verhältnis $\frac{A}{B}$	Infolge der Wirkung des autolytischen Enzyms	
				Gesamt- stickstoff auf 100 g Hefe um- gerechnet g	Purinbasen g
I	Senföl	$\frac{1}{8}$ ge- sättigt	A	0,993	0,188
			B	1,097	0,227
			C	0,905	0,828
II	Senföl	$\frac{1}{16}$ ge- sättigt	A	0,993	0,188
			B	1,017	0,219
			C	0,976	0,858
III	Toluol	gesättigt	A	0,993	0,188
			B	0,965	0,202
			C	1,029	1,074
IV	Toluol	$\frac{1}{2}$ ge- sättigt	A	0,993	0,188
			B	1,227	0,299
			C	0,809	0,623

Mit einer $\frac{1}{16}$ Senföllösung wurde vor der Digestion zur Kontrolle gekocht. Bei $\frac{1}{8}$ Verdünnung ist die Wirkung der

Nuclease unwesentlich gesteigert. Bei dem gesättigten Toluolwasser wurde keine Veränderung beobachtet, dagegen wurde bei der halbgesättigten Lösung sowohl bezüglich der Endotryptase als auch der Nuclease eine wesentliche Vermehrung beobachtet. Die bakteriologische Untersuchung ergab, daß die $\frac{1}{8}$ - und $\frac{1}{16}$ -Senföllösungen, wie gesättigte Toluolwasser, ganz steril geblieben waren, während die halbgesättigte Toluolwasserlösung Bakterien enthält, sodaß die entsprechende Vermehrung bei dieser Konzentration nicht auf die Beeinflussung der Fermente zu beziehen ist. Aus den mitgeteilten Versuchen folgt, daß das proteolytische Ferment und die Nuclease der Hefe, gleiche Versuchsanordnung vorausgesetzt, sich in den meisten Fällen anders verhält, als die gleichen Fermente der Leber.

Formaldehyd bewirkt in einer Konzentration von 1% eine Aufhebung der Autolyse, das stimmt mit der Wirkung auf die Leberfermente überein, dagegen ist eine Beförderung der tryptischen Wirkung durch Antiseptica in bestimmter Konzentration, die wir bei der Leber kennen, bei der Hefe nicht zu erzielen. Etwas mehr beeinflussbar ist die Nuclease, deren Wirkung in den Versuchen mit $\frac{1}{4}$ gesättigtem Senföhlwasser gegenüber dem Chloroformwasser nicht unwesentlich gesteigert ist, in geringerem Grade auch bei den verschiedenen anderen antiseptischen Mitteln.
