

Bemerkungen über Autolyse und Konservierung.

Von

E. Salkowski.

(Aus der chemischen Abteilung des pathologischen Instituts der Universität zu Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 30. September 1909.)

1. Nach den auf meine Veranlassung ausgeführten Untersuchungen von Yoshimoto¹⁾ und Kikkoji²⁾ ist es nicht gleichgültig, welches Antisepticum man bei der Ausführung autolytischer Versuche verwendet.

Es hat sich gezeigt, daß das von mir empfohlene bei Zimmertemperatur gesättigte Chloroformwasser, wenn man das Verhältnis von Organbrei zu Chloroformwasser = 1 : 10 nimmt, vollständige Sicherheit gegen gleichzeitige Wirkung von Bakterien gewährt, sodaß Überimpfungen auf Nährgelatine wohl entbehrt werden können, weiterer Zusatz von Chloroform zu der Mischung unnötig ist und schädlich wirkt, insofern der Umfang der Autolyse dadurch herabgesetzt wird. Als unzumutbar hat sich die Kombination von Chloroformwasser und Toluol ergeben, die man wohl in der Idee angewendet hat, die Infektion mit Bakterien von der Oberfläche her zu verhüten. Man hat sich dabei nicht klar gemacht, daß bei wiederholtem Schütteln der Mischungen das Chloroform durch das Toluol ausgeschüttelt werden kann. Die zahlreichen auf diesem Wege angestellten Versuche sind also, wenigstens bei dem Verhältnis 1 : 7 oder darunter, mit einer gewissen Unsicherheit behaftet, falls nicht eine bakteriologische Prüfung stattgefunden hat.

Gegen die Anwendbarkeit des Chloroforms hat sich Vandervele³⁾ ausgesprochen. Er berichtet, daß mit Chloroform durch-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LVIII, S. 341.

²⁾ Siehe die vorstehende Arbeit.

³⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. III, S. 316.

geschüttelte in Röhren aufbewahrte, bei $37,5^{\circ}$ gehaltene Milch sich nach 5 Tagen stark infiziert gezeigt habe. An diesem Mißerfolg kann nur eine fehlerhafte Versuchsanordnung schuld sein, die vermutlich in der Flüchtigkeit des Chloroforms durch den Wattepfropfen hindurch begründet ist. Selbstverständlich muß bei den Versuchen die Verflüchtigung des Chloroforms durch guten Verschluß der Röhren resp. Flasche verhindert werden. Unter diesen Umständen bleibt die Milch, wie jede andere fäulnisfähige Flüssigkeit, jahrelang steril. Ebenso ist wohl auch eine von Vandevelde mitgeteilte Beobachtung von van Laer zu beurteilen, nach welcher eine mit Chloroform konservierte «diastatische Malzauflösung nicht länger als 15 Tage aufbewahrt werden kann». Ich habe die allerverschiedensten leicht verderbenden Flüssigkeiten — u. a. auch Milch — jahrelang mit Chloroformzusatz aufbewahrt, ohne daß sich irgend welche Zersetzung oder Bakteriengehalt nachweisen ließ, guten Verschluß natürlich vorausgesetzt. Auch die Fermentwirkungen bleiben viele Jahre unverändert: so erwies sich verdünnter Speichel, der mit Chloroformzusatz seit dem 1. Juli 1887, also 22 Jahre, in einer Flasche gestanden hatte, jetzt, nach Filtrieren und Austreibung des Chloroforms durch einen Luftstrom, noch vollkommen wirksam. Amylumkleister verflüssigte sich nach Zusatz von ein wenig der inzwischen etwas gelblich gewordenen Flüssigkeit in wenigen Augenblicken unter den Augen des Beobachters, auf Zusatz von ein wenig Jodjodkaliumlösung entstand keine Blaufärbung, sondern intensive Rotfärbung. Eine einige Minuten bei Zimmertemperatur stehen gelassene Probe der Mischung gab starke positive Trommersche Probe. Natürlich wurde ein Kontrollversuch mit derselben Speichelflüssigkeit ohne Amylumzusatz gemacht, der ganz negativ verlief.¹⁾ Der Ausspruch von Vandevelde:

¹⁾ In der klinischen Literatur — eine Notiz darüber habe ich mir leider nicht gemacht — ist, wie ich bei dieser Gelegenheit erwähnen möchte, vor der Anwendung von Chloroform zur Konservierung von Harn, namentlich zuckerhaltigem, gewarnt worden, weil, wie der Autor angibt, Chloroform in wässriger Lösung alkalische Kupferlösung reduziert. Ich habe diese Tatsache, die in verschiedenen Lehrbüchern erwähnt wird

«Mit Chloroform sind die Bakterien nur einige Tage geschwächt derart, daß dieses Reagens nur für eine kurze Zeit dienen kann, dagegen nicht für eine lange», ist durchaus irrig.

Die Untersuchungen von Yoshimoto und Kikkoji haben andererseits ergeben, daß das Chloroform in gesättigter wässriger Lösung schädigend auf das proteolytische und nucleolytische Ferment der Leber, also wohl der Organe überhaupt einwirkt, daß bei Anwendung anderer Antiseptica die Autolyse in größerem Umfang eintritt. Yoshimoto hat dieses namentlich für 1%ige Borsäure, $\frac{1}{2}$ %ige Salicylsäure, $\frac{1}{8}$ gesättigtes Senföhlwasser nachgewiesen, Kikkoji für gesättigte Benzoesäurelösung und Formaldehydlösung mit einem Gehalt von $\frac{1}{32}$ %. Am stärksten wirken Salicylsäure und Benzoesäure. Setzt man die durch Chloroformwasser bewirkte Autolyse = 100, so ist sie bei Anwendung von Salicylsäure 234, von Benzoesäure 242. Während von dem Gesamt-N der Leber bei Anwendung von Chloroformwasser rund 20% in Lösung gehen, steigt dieser Wert bei Anwendung von Benzoesäure auf ca. 50%.

Es fragt sich nun, soll man die Anwendung von Chloroformwasser ganz verlassen und an seine Stelle das Senföhlwasser oder die Benzoesäurelösung oder Salicylsäurelösung setzen? oder ist in einzelnen Fällen dieses Mittel, in anderen jenes vorzuziehen?

Diese Frage möchte ich in folgender Weise beantworten.

Handelt es sich darum, zu entscheiden, ob überhaupt autolytisches Ferment vorhanden ist oder nicht, oder mit anderen Worten um den Nachweis etwaiger Spuren desselben, so wird man naturgemäß jetzt nicht mehr Chloroform nehmen, sondern eines der wirksameren, d. h. weniger störenden Antiseptica. Welches nun? Am «wirksamsten» haben sich Salicylsäure und

(z. B. Huppert, Harnanalyse, 10. Auflage, S. 607), als bekannt vorausgesetzt, ebenso als selbstverständlich nicht erwähnt, daß das Chloroform vor der Untersuchung auf Zucker entfernt werden muß. Wie ich sehe, hätte es nicht geschadet, wenn ich dieses besonders bemerkt hätte. Übrigens will ich durchaus nicht behaupten, daß u. U. nicht auch andere Konservierungsmittel beim Harn brauchbar seien, z. B. Thymol.

Benzoessäure erwiesen, etwas weniger wirksam das verdünnte Senföhlwasser, indessen führt die Anwendung eines sauer reagierenden Antisepticums eine gewisse Komplikation in den Versuch ein, da ein nachzuweisendes proteolytisches Enzym — es ist anzunehmen, daß dasselbe nicht einheitlicher Natur ist — gegen Säuren empfindlich sein könnte, während in der Regel allerdings die Säuren, wie namentlich Arinkin ausführlich dargetan hat,¹⁾ befördernd wirken. Ferner kann die Benzoc- oder Salicylsäure bei der Verarbeitung der Autolyseflüssigkeit störend wirken, da sie nicht wie das Chloroform und Senföl unter allen Umständen durch die Verarbeitung eo ipso eliminiert werden, ohne daß man sich darum zu kümmern braucht. Zweckmäßig wird man Parallelversuche mit einer der beiden Säuren und Senföhlwasser anstellen. Bei Anwendung von Salicylsäure und Senföhlwasser möchte es sich auf alle Fälle empfehlen, die Mischungen auf das Vorhandensein von Bakterien zu prüfen. Yoshimoto hat allerdings in seinen Versuchen die betreffenden Mischungen bei Impfungen durch Stich steril gefunden, allein diese hat Kikkoji nicht absolut zuverlässig gefunden: sie versagte ihm manchmal, wenn die Impfung durch Strich noch ein positives Resultat gab. Ferner wird man die «weniger störenden» Antiseptica anwenden, wenn man eine möglichst tiefgehende und umfangreiche Autolyse beabsichtigt.

Es gibt aber auch Fälle, in denen mir das Chloroformwasser mehr am Platz zu sein scheint, nämlich in solchen Versuchen, in denen störender oder befördernder Einfluß einer bestimmten Versuchsanordnung, wie Temperatur, Zeitdauer, und namentlich der Einfluß gleichzeitig vorhandener chemischer Körper festgestellt werden soll. Der Fall liegt hier ebenso, wie z. B. bei der Pepsinverdauung; auch hier ist es nicht immer zweckmäßig, möglichst stark wirkende Pepsinsalzsäure anzuwenden, weil es sehr wohl vorkommen kann, daß bei einer solchen störende Einflüsse keine Differenzen verursachen, während sich solche bei schwächer wirkenden Verdauungslösungen sehr wohl bemerkbar machen. Auch für pathologische Organe würden sich nicht

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LIII, S. 192.

immer die weniger störenden, also gewissermaßen stärker wirkenden Antiseptica empfehlen, da sich hierbei Unterschiede, wie z. B. M. Jacoby¹⁾ für die Phosphorleber gegenüber der normalen Leber festgestellt hat, leicht verwischen könnten. Übrigens hindert ja auch nichts, Parallelversuche unter Zusatz verschiedener Antiseptica anzustellen.

Unbedingt zu verwerfen ist das Chloroform in der Anwendung auf unverdünntes Blut, da dieses mit Chloroform durchgeschüttelt im Thermostaten bei 38—40° zu einem festen Klumpen gerinnt, wie ich²⁾ schon in meiner ersten Mitteilung über die konservierenden Eigenschaften des Chloroforms angegeben habe.

Um eine zahlenmäßige Vorstellung von der Art der autolytischen Zersetzung des Eiweißes und der Nucleoproteide zu erhalten, habe ich ein Verfahren ausgearbeitet, nach welchem der Nichteiweißstickstoff der Autolyseflüssigkeit in die 4 Gruppen: N der Monaminosäuren, der Albumosen, der Purinbasen und der Diaminosäuren + Pepton + Ammoniak geteilt wird. Das Verfahren ist gewiß nicht einwandfrei, z. B. würde nach dieser Einteilung der Stickstoff des Harnstoffs und Allantoins, wenn diese vorhanden, in die Gruppe der Monaminosäuren³⁾ geraten, auch wäre eine weitere Differenzierung innerhalb der Gruppe Diaminosäuren usw. wünschenswert; immerhin hat es sich, nachdem es zuerst von Drzewezki⁴⁾ angewendet worden ist, in einer Reihe weiterer Arbeiten aus meinem Laboratorium bewährt. Dasselbe Verfahren hat nun auch Izar⁵⁾ (resp. Ascoli und Izar) in einer kürzlich erschienenen Arbeit angewendet. Izar beschreibt dasselbe ausführlich, ohne sich auf den Autor zu beziehen, der es zuerst publiziert hat, nämlich Drzewezki. Er erwähnt diesen überhaupt nicht. Dadurch kann der An-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 174.

²⁾ Deutsch. med. Wochenschr., 1888, S. 229.

³⁾ Daß auch Monaminosäuren durch Phosphorwolframsäure mitgefällt werden könnten, ist bei der geringen Konzentration, bei welcher diese Fällung stattfindet, nicht zu befürchten.

⁴⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. I, S. 229.

⁵⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. XVII, S. 361.

schein entstehen, als ob er selbst das Verfahren ausgearbeitet habe. Ohne einen besonderen Wert darauf zu legen, daß das Verfahren von mir herrührt, möchte ich doch verhindern, daß es etwa künftig heißt, «die Trennung der Autolyseprodukte wurde nach dem Verfahren von Izar vorgenommen», was mit großer Wahrscheinlichkeit zu erwarten wäre, da viele Autoren immer den zitieren, der sich zuletzt mit dem betreffenden Gegenstand beschäftigt hat. Wenn das Verfahren mit einem Namen bezeichnet werden soll, kann es nur der meinige sein. Selbstverständlich nehme ich an, daß nur ein Versehen von seiten Izars und keine absichtliche Unterlassung des Zitates vorliegt.

2. Schmidt-Nielsen¹⁾ hat darauf hingewiesen, daß alles Fleisch, das wir genießen, bis zu einem gewissen Grade autolytisch ist. Man wird ihm darin beistimmen müssen. Er hat ferner das Stattfinden ziemlich weitgehender Autolyse bei der Konservierung der Heringe durch Einsalzen nachgewiesen. Es kann nicht zweifelhaft sein, daß bei allen durch die üblichen chemischen Substanzen konservierten animalischen Nahrungsmittel, soweit sie nicht erhitzt oder getrocknet sind, die Autolyse mit der Zeit der Aufbewahrung zunimmt. Die Versuche von Yoshimoto und Kikkoji sind nun nicht allein in der Absicht angestellt, Aufklärung über die beste Art der Anstellung autolytischer Versuche zu erhalten, sondern auch von dem Gesichtspunkt aus, die «Wirkung» der üblicheren Konservierungsmittel festzustellen.

Bei der Beurteilung der Zulässigkeit eines Konservierungsmittels ist nun bisher immer nur gefragt worden, ob die betreffenden Chemikalien bei längerem Genuß gesundheitsschädliche Wirkungen entfalten können. Es fragt sich, ob nicht auch die Produkte der Autolyse unerwünschte oder gesundheitsschädliche Eigenschaften des konservierten Nahrungsmittels zur Folge haben können. Dieser Gesichtspunkt ist meines Wissens bisher nicht hervorgehoben worden; daß er nicht unberechtigt ist, geht aus Versuchen hervor, die ich vor längerer Zeit mit

¹⁾ Hofmeisters Beiträge usw., Bd. III, S. 266.

verschiedenen Methan- und Äthanchlorderivaten¹⁾ angestellt habe, in deren wässrige Lösung Fleisch, gehackt oder in Scheiben geschnitten — z. T. unter Überdruck von einigen Atmosphären —, eingelegt wurde. Eine Fäulnis trat nicht ein, in fast allen Fällen ließ sich jedoch Pepton im Fleisch resp. der wässrigen Flüssigkeit nachweisen. Wie aus den Versuchen von Kikkoji hervorgeht, ist von den untersuchten antiseptischen Mitteln nur eines in 1%iger Lösung imstande, die Autolyse so gut wie völlig aufzuheben, nämlich der Formaldehyd, während die Autolyse in $\frac{1}{2}$ %iger Lösung zwar sehr beschränkt, aber doch nachweisbar ist. Diese Tatsache ist in bezug auf das alte Räucherverfahren, das sich der Konservierung durch zugesetzte chemische Mittel so weit überlegen zeigt, gewiß von Interesse.

¹⁾ Ich komme auf dieselben vielleicht noch einmal zurück. — Chloroformwasser ist nicht verwendbar, da das damit konservierte Fleisch auch nach dem Kochen noch den süßlichen Chloroformgeschmack zeigt.