

# Untersuchungen über proteolytische Wirkung von Hefen.

Von **Franz Zaribnicky** (Wien).

(Aus dem Institut für Milchhygiene, Lebensmittel- und Futtermittelkunde der Tierärztlichen Hochschule Wien.)

(Eingelangt am 4. Juli 1929.)

Die proteolytische Fähigkeit verschiedener Mikroben ist meist nur qualitativ durch Beobachtung von Verflüssigung auf Gelatine-nährböden verfolgt worden. Es erschien jedoch wünschenswert, den Vorgang der Proteolyse quantitativ zu verfolgen, um über sein Ausmaß zahlenmäßige Anhaltspunkte zu gewinnen.

In bisher erfolgten Veröffentlichungen einschlägiger Untersuchungen durch F. ZARIBNICKY und F. MÜNCHBERG<sup>1)</sup>, F. ZARIBNICKY und F. WEIGNER<sup>2)</sup>, F. ZARIBNICKY und A. STAFFÉ<sup>3)</sup> sind es vorwiegend Vertreter verschiedener Schizomyceten, deren proteolytische Eigenschaften untersucht wurden. Abgesehen von den notwendigen bakteriologischen Methoden kam ganz allgemein als Nährboden sterile Milch in Frage, in welcher durch das nachstehend wiedergegebene Verfahren die Eiweißabbauprodukte quantitativ ermittelt wurden. Nach Bebrüten der sterilen Milch mit dem zu prüfenden Vertreter der Saccharomyceten durch verschieden lange Zeit im Brutschranke wurde sie folgendermaßen verarbeitet:

1. 1 ccm der so vorbehandelten Milch wird in ein 10-ccm-Meßkölbchen einpipettiert.
2. Eintragen von 0,2 g kristall. Magnesiumsulfat und Auflösen.
3. Auffüllen bis zur Marke mit Methanol „Kahlbaum“ [D = 0,814].
4. Nach Verschuß des Kölbchens mit eingeriebenem Stöpsel wurde zwei bis drei Minuten der Kolbeninhalt kräftig geschüttelt, weggestellt bis zum Absetzen des Niederschlages.
5. Klare Flüssigkeit wird durch ein gehärtetes Filter (SCHLEICHER-SCHÜLL 575) filtriert und in einem aliquoten Teil der Stickstoffgehalt mittels Mikrokjeldahlverfahren von F. PREGL<sup>4)</sup> im Apparate nach der Modifikation von PARNAS und WAGNER<sup>4)</sup> bestimmt.

<sup>1)</sup> F. ZARIBNICKY u. F. MÜNCHBERG, *Milchw. Forschgn.* 1926, 3, 404—413.

<sup>2)</sup> F. ZARIBNICKY u. F. WEIGNER, *Milchw. Forschgn.* 1926, 3, 432—459.

<sup>3)</sup> F. ZARIBNICKY u. A. STAFFÉ, *Milchw. Forschgn.* 1928, 55, 361—373.

<sup>4)</sup> F. PREGL, *Die quantitative organische Mikroanalyse*, Berlin 1923.

Allerdings zeigte sich bereits in den Vorversuchen, daß das Wachstum der Hefen in steriler Milch nur langsam vonstatten ging, so daß es sich als vorteilhaft erwies, die Hefen zuerst auf Milchzuckeragar durch längere Zeit fortzuzüchten und sie erst nach dieser Passage in Milch zu überimpfen. Das Wachstum der Hefen wurde von Zeit zu Zeit mikroskopisch kontrolliert und die Reinkultur festgestellt.

In der folgenden Tabelle sind die Versuchsergebnisse mit den Hefen wiedergegeben.

H e f e n	mg N in 1 cm <sup>3</sup> Filtrat = 0,1 ccm Milch		
	nach 14 Tagen	nach 8 Wochen	Differenz
Weinhefe	0,0798	0,1078	0,0280
Rahmhefe	0,0798	0,1106	0,0308
Anomalushefe	0,0728	0,3262	0,2534
Zygosaccharomyces	0,1078	0,2828	0,1750
Apiculatus	0,0798	0,1806	0,1008
Endomyces	0,1078	0,2996	0,1918
Saccharomyces lactis	0,0728	0,1750	0,1022
Mycotorula	0,0798	0,3146	0,2348
Rosahefe	0,0658	0,1806	1,1148
Kontrollprobe	—	0,0574	—

Aus dieser Tabelle ist zu entnehmen, daß die Fähigkeit der einzelnen Hefen in steriler Milch proteolytisch zu wirken bereits nach 14 Tagen recht verschieden hoch ist, gemessen am Stickstoffgehalt der Methanollösung. Deutlicher jedoch wird die Intensität der Proteolyse bereits nach acht Wochen, und die Differenzen zwischen den Werten nach 14 Tagen und nach acht Wochen zeigen recht auseinanderliegende Werte. Zur Kontrolle wurde auch in steriler, unbeimpfter Milch der Gehalt an methanollöslichem Stickstoff bestimmt, wobei ein Wert von 0,0574 mg in 1 ccm Filtrat, entsprechend 0,1 ccm Milch, gefunden wurde. Dieser Wert liegt innerhalb der bis jetzt in zahlreichen Versuchen ermittelten Werte für methanollöslichen Stickstoff in steriler, unbeimpfter Milch, welcher mit 0,040 mg bis 0,068 mg für 0,1 ccm Milch bestimmt wurde. Ebenso wurde der Gesamtstickstoffgehalt in 0,1 ccm keimarm gewonnenener, bei 100° C fraktioniert sterilisierter Milch von 0,470 bis 0,530 mg ermittelt. Der Vollständigkeit halber sei bemerkt, daß sich auch bei Überprüfung der angeführten Hefen auf ihre pro-

teolytische Fähigkeit nicht immer schon makroskopisch ein Anhaltspunkt gewinnen ließ, durch Besichtigung der einzelnen Milchproben.

In Analogie zu den bisher an Schizomyceten durchgeführten Untersuchungen kann auch für die Hefen als Vertreter der Saccharomyceten eine in Milch als Nährsubstrat wechselnde proteolytische Fähigkeit beobachtet werden.

Die angegebene Methode der Bestimmung des methanollöslichen, stickstoffhaltigen Anteiles, nach dem Mikrokjeldahlverfahren von F. PREGL, ermöglicht eine zahlenmäßige Feststellung über die Stärke der proteolytischen Fähigkeit bei den einzelnen Hefen.

---

### Berichtigungen:

- pag. 22, erste Zeile von oben, statt: indentifiziert soll es lauten: „identifiziert“;
- pag. 25, im 2. Absatz, zweite Zeile von unten, statt: im Wasserauftrieb soll es lauten: „durch Wasserauftrieb“;
- pag. 134, im Bild 1 sollen die Bezeichnungen  $M_2$  und  $M_1$  lauten;
- pag. 217, erste Zeile von oben, statt: siehe Seite 7 soll es lauten: „siehe Seite 209“.