

Aus dem Chemisch-physikalischen Institut der Bundesforschungsanstalt für Fleischwirtschaft, Kulmbach

Die Salzung von Speck unter Berücksichtigung zolltariflicher Probleme

Von Prof. Dr. R. Grau und Dr. A. Böhm

Seit Inkrafttreten der 58. Verordnung über Zollsatzänderungen (Bundeszollblatt Nr. 24, S. 435), d. h. seit dem 1. Juli 1956, ist es nach dem Zolltarif Nr. 0205 bei nicht durchwachsenem Schweinespeck ohne Einfluß, ob er frisch (Abs. A), gekühlt oder gefroren (Abs. B) oder gesalzen (aus Abs. C) ist. Soweit es sich nicht um gedörrten, geräucherten, gekochten oder sonst zubereiteten Speck handelt, wird generell ein zeitweiliger Zollsatz von 10 % des Einfuhrwertes erhoben; bei der Tarifierung darf also der Zollanmeldung ohne Untersuchung gefolgt werden.

Durch diese Verordnung dürfte das von verschiedenen Autoren^{1, 2, 3, 4}) wiederholt diskutierte Problem der zolltariflichen Beurteilung importierter Specke einer Lösung nähergebracht worden sein, da der seinerzeit für die inneren Schichten angesalzener Specke festgesetzte Grenzwert von 1,5 % NaCl umstritten war. Die von uns hier mitgeteilten Untersuchungen, deren Ziel eine grundsätzliche Klärung des Einflusses von Temperatur, Lagerzeit und Wassergehalt auf die Salzung von Specken war, tragen außerdem zu einer Begründung der oben genannten Zollsatzvereinfachung bei.

Wie aus den von E. Kallert³) durchgeführten Untersuchungen an angesalzenen Importspecken hervorgeht, schwanken die Wasser- und Kochsalzgehalte dieser Specke in weiten Grenzen. In den äußeren Schichten wurden Wassergehalte von 1,15—8,38 % H₂O, in den inneren von 0,90—8,34 % gefunden, der Kochsalzgehalt lag zwischen 0,61—3,19 % NaCl außen und 0,76 bis 3,39 % innen. Zwischen Innen- und Außenschichten wurden also keine wesentlichen Unterschiede gefunden, wohl aber zwischen den einzelnen Proben. Von Drawe und Wurziger⁴) war die Heranziehung des Quotienten $\frac{\% \text{ NaCl}}{\% \text{ H}_2\text{O}}$ zur Unterscheidung angesalzener und durchgesalzener Ware empfohlen worden. Beträgt dieser Quotient 0,2, dann würde sowohl bei Fleisch wie auch bei Speck eine ausreichende Salzung stattgefunden haben. Für eine bei 20° C gesättigte Kochsalzlösung beträgt dieser Quotient 0,358. Specke, die diesen Wert aufweisen, müssen also völlig durchgesalzen sein. Tatsächlich werden aber häufig höhere Werte für den Quotienten beobachtet. Hierauf wird weiter unten noch näher eingegangen.

Wir untersuchten nun die Änderung der Kochsalz- und Wassergehalte verschiedener Specke und das Verhalten der daraus berechneten Quotienten über einen Zeitraum von 50 bzw. 60 Tagen, um Einblick in die grundsätzlichen Vorgänge bei der Salzung von Speck zu gewinnen; außerdem sollte der Einfluß der Temperatur geklärt werden.

Durchgekühlte Speckseiten von ungefähr 4 cm Höhe wurden derart in gleiche Teile geteilt, daß von jeder Seite zu 4 verschiedenen Zeiten Kochsalz-, Wasser-, Gewichts- und pH-Bestimmungen in den innersten und äußeren Schichten durchgeführt werden konnten. Die Stücke wurden mit Salz eingerieben und mit Salz bestreut in Tongefäßen aufbewahrt. Die Lagerung

fand bei 4—5° und bei 20—22° C statt. Die Luftfeuchtigkeit betrug bei 4—5° C 70 %, bei der höheren Temperatur ebenfalls meist 70 %, gelegentlich wurde ein Absinken auf 60 % registriert.

Ein Vorversuch, bei dem zwei Specke mit einem Siede- bzw. einem Vakuumsiedesalz behandelt wurden, zeigte den Einfluß der unterschiedlichen Beschaffenheit und des Anfangswassergehalts der Specke auf deren Wasser- und Kochsalzgehalt während der Lagerung. Die Bestimmungen wurden nach 1, 3, 4 bzw. 5 und 8 Wochen durchgeführt, die Lagerungstemperatur betrug 5° C (s. Tab. 1 und Abb. 1).

Tabelle 1

Speck, mit Vakuum- und Siedesalz gesalzen (innen)

Salz	nach Tagen	% H ₂ O	% NaCl	Q
Vakuumsalz	0	6,75	—	
	8	4,82	0,946	0,197
	25	5,00	1,89	0,378
	33	5,55	1,95	0,352
	60	9,46	3,20	0,338
Siedesalz	0	4,70	—	
	8	4,75	0,95	0,200
	26	4,97	1,53	0,308
	40	5,29	1,86	0,352
	60	6,39	2,07	0,324
— keine Bestimmung				

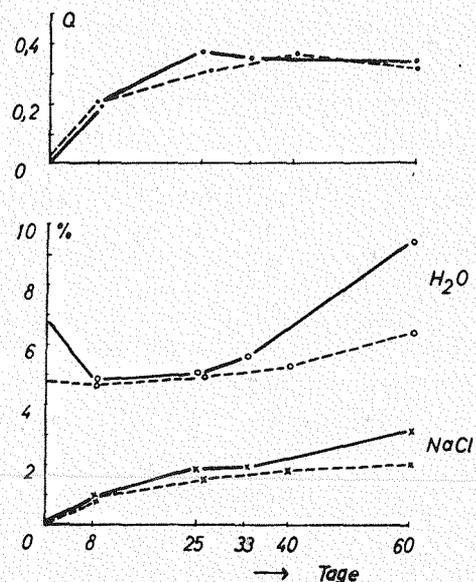


Abb. 1: Salzung von Specken (innere Schicht). Lagerung bei 5° C. — Tier A, Vakuumsiedesalz, - - - Tier B, Siedesalz, Körnung 0

Das Verhalten von Hühneriweiß, Muskelgewebe und Gelatine wurde eingehend von Callow⁵) untersucht. So erfolgt z. B. bei Muskelgewebe zunächst eine regelrechte Entwässerung; nach einer gewissen Zeit (5 Std.) dringt wieder Wasser aus der Salzlösung in das Gewebe ein. Grundsätzlich ließen sich bei uns ähnliche Erscheinungen bei der Salzung von Speck be-

obachten, wie aus den Abb. 1, 2, 3 und 4 zu erkennen ist. Nach der anfänglichen Phase der Entwässerung, die sich hier allerdings über Tage erstreckt, stieg der Wassergehalt allmählich wieder an, so daß der Anfangswassergehalt besonders in dem einen Fall der Salzung mit Vakuumsiedesalz (s. Abb. 1) sogar überschritten wurde. Wie Wasserbestimmungen der verwendeten Salze zu Versuchsbeginn und nach 60 Tagen bei Versuchsende zeigten, hatte das aufgestreute Salz durch die Luftfeuchtigkeit Wasser aufgenommen.

	Versuchsbeginn	nach 60 Tagen
Vakuumsiedesalz	0,05 % H ₂ O	2,23 % H ₂ O
Siedesalz	0,45 % H ₂ O	1,80 % H ₂ O

Während der Versuchsdauer dürften sich in dem Kochsalzenthaltenden Fettgewebe die Vorgänge der Wasseraufnahme und -abgabe z. T. überlagern, wobei es auf Grund osmotischer Prozesse zu einer Wanderung des Salzes im Gewebe und in gewissen Fällen zum Auskristallisieren des Salzes im Gewebe kommen kann. Hierin dürfte auch die Erklärung für die mehrfach berichtete geringe Übereinstimmung von Kochsalzbestimmungen derselben Speckprobe und für die ebenfalls häufig beobachtete Überschreitung^{1, 3)} des Wertes 0,358 für den Quotienten $\frac{\% \text{ NaCl}}{\% \text{ H}_2\text{O}}$ zu finden sein.

Die Wasseraufnahme wurde, wie auch die folgenden Versuche zeigen (s. Abb. 2, 3 und 4), durch tiefere Lagertemperaturen begünstigt und dadurch auch die Möglichkeit zur weiteren Salzaufnahme.

Der seinerzeit gültige Grenzwert von 1,5 % NaCl wurde in diesem Vorversuch bereits in den ersten acht Tagen der Salzung bei konstantem bzw. sinkendem Wassergehalt erreicht. Der Quotient von 0,2 in Tab. 1 würde hier ungefähr einem Kochsalzgehalt von 1 % entsprechen, der Grenzwert von 1,5 % NaCl aber einem Quotienten von 0,30. Damit soll nur kurz auf die Problematik von Grenzwerten hingewiesen werden, besonders wenn sie sich auf biologisches Material beziehen, auch wenn es sich dabei um einen verhältnismäßig so einheitlichen Rohstoff handelt, wie es das Fettgewebe darstellt.

In einer zweiten Versuchsreihe sollte der Einfluß der Temperatur auf die Salzaufnahme untersucht werden.

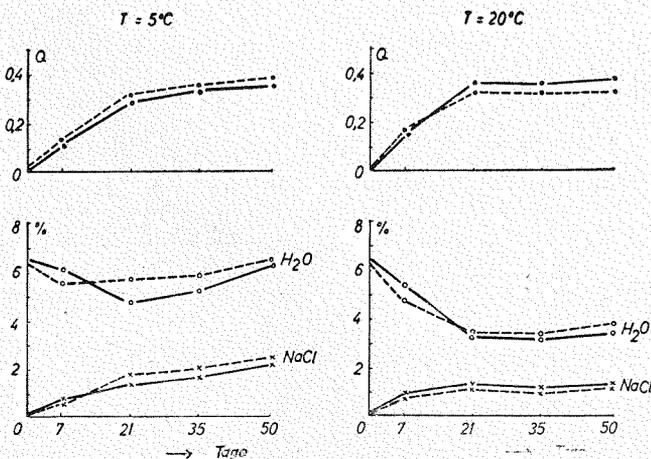


Abb. 2: Salzung von Specken (innere Schicht). Lagerung bei 5° und 20° C. Tier I ———, Tier II - - - -

Abb. 2 zeigt den Einfluß von 5° und 20° C Lagertemperatur auf Speck zweier Tiere. Die Wirkung der Temperatur war eindeutig feststellbar.

Bei 5° C erfolgte, wie im ersten Versuch, nach anfänglichem Absinken des Wassergehaltes ein Wiederanstieg bis zu dem Anfangswert. Bei 20° C Lagertemperatur sanken die Wassergehalte viel ausgeprägter und blieben bei beiden Tieren bis Versuchsende (nach 50 Tagen) über 50 % niedriger als der Anfangswassergehalt. Der Wassergehalt des verwendeten Salzes betrug 0,653 % bei Versuchsbeginn, und bei Versuchsende nach 50 Tagen für die Lagerung bei 5° C 2,74 % und bei 20° C 3,04 %.

Die Kochsalzgehalte stiegen in der ersten Phase stark, im weiteren Verlauf des Versuches allmählich an.

Die Quotienten Q zeigten in allen Fällen den bereits festgestellten Verlauf: Ansteigen der Werte, solange der Wassergehalt sank, vom Zeitpunkt der gleichsinnigen Änderung von Wasser- und Kochsalzgehalt erfolgten dementsprechend nur noch geringe Änderungen der Quotientenwerte, die schließlich 0,358, den Wert für gesättigte Kochsalzlösungen, erreichten. Die Werte für Wasser, Kochsalz, den Quotienten Q und die pH-Werte für die inneren Speckschichten sind in Tab. 2 zusammengefaßt.

Tabelle 2
Salzung von Specken bei 5° und 20° C (innen)

	nach Tagen	T = ° C	% H ₂ O	% NaCl	Q	pH
I	0	20	6,38	0,05	0,008	7,05
		5	6,42	0,05	0,008	6,95
	7	20	5,32	0,819	0,154	6,25
		5	6,09	0,700	0,115	6,35
	21	20	3,26	1,168	0,358	5,92
		5	4,68	1,307	0,279	5,74
	35	20	3,11	1,093	0,351	6,10
		5	5,12	1,656	0,323	6,07
	50	20	3,34	1,240	0,371	6,10
		5	6,19	2,104	0,340	5,85
II	0	20	6,33	0,05	0,008	6,80
		5	6,28	0,05	0,008	6,85
	7	20	4,81	0,794	0,165	6,30
		5	5,50	0,678	0,123	6,33
	21	20	3,36	1,055	0,314	5,77
		5	5,64	1,726	0,306	5,87
	35	20	3,37	1,070	0,318	6,00
		5	5,77	2,009	0,348	5,90
		20	3,76	1,176	0,313	6,04
		5	6,35	2,389	0,376	5,90

Abbildung 3 zeigt die Versuchsergebnisse an den Specken der verwendeten Tiere I und II, die denselben Temperatur- und Luftfeuchtigkeitsbedingungen unterworfen waren. Neben dem für Wasser- und Kochsalzgehalte bedeutenden Temperatureffekt wurde aber auch die Verschiedenheit des Rohmaterials deutlich, die sich darin äußert, daß sich trotz der grundsätzlich gleichen Tendenz des Temperatureinflusses die Werte der Quotienten von Tier zu Tier unterschiedlich verhalten. Bei Tier I waren die Q-Werte für die bei 5° C aufbewahrten Speckproben durchwegs etwas niedriger als die der bei 20° C aufbewahrten Proben. Bei Tier II lagen die Werte für bei 5° C aufbewahrten Speck zunächst ebenfalls niedriger, nach einer Versuchsdauer von 21 Tagen waren sie denjenigen für Specke, die bei 20° C aufbewahrt wurden,

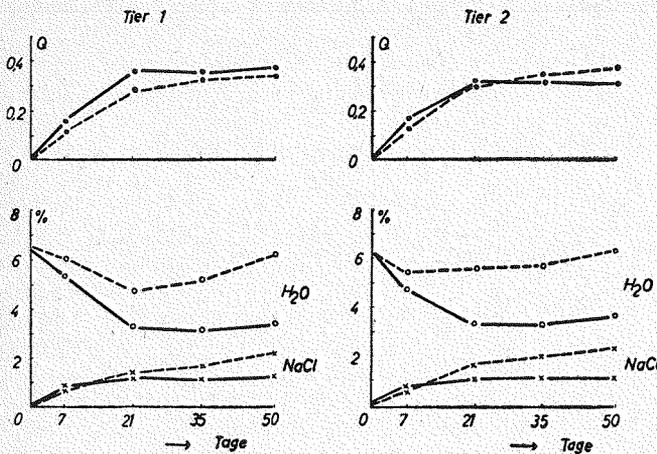


Abb. 3: Salzung von Specken (innere Schicht). Lagerung von Speck I und Speck II bei 20° C ——— und bei 5° C - - - - -

gleich; von diesem Zeitpunkt bis Versuchsende waren sie dagegen höher.

Die pH-Werte sanken, wie die Messungen zeigten, bereits während der ersten Phase der Salzung ab.

In Tab. 3 sind die in den äußeren Schichten ermittelten Werte für Kochsalz, Wasser, pH und die Quotienten $\frac{\% \text{ NaCl}}{\% \text{ H}_2\text{O}}$ zusammengefaßt.

Abb. 4 zeigt den deutlichen Einfluß der Temperatur, wie er auch für die inneren Schichten festgestellt wurde. Bei 20° C Lagertemperatur war der Wassergehalt der äußeren Schichten nach 7 Tagen beträchtlich gesunken und der erreichte niedrige Wert blieb, abgesehen von geringen Schwankungen, bis Versuchsende erhalten. Die Kochsalzgehalte hatten hingegen nach 7 Tagen ihre Maximalwerte fast erreicht.

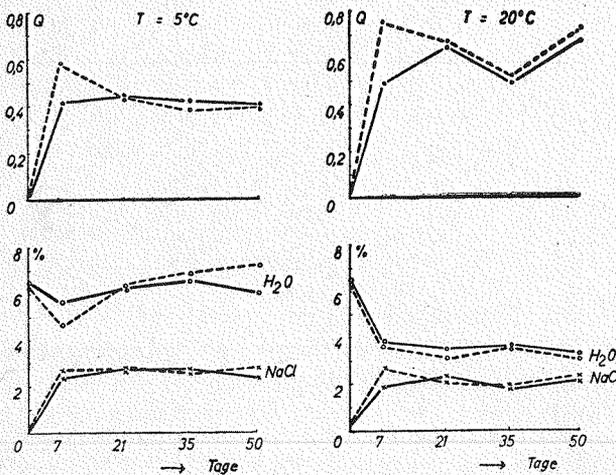


Abb. 4: Salzung von Specken (äußere Schicht), Lagerung bei 5° C und 20° C. Tier I ———, Tier II - - - - -

Bei 5° C Lagertemperatur stieg der Wassergehalt nach der ersten Phase der Entwässerung wieder etwas an (besonders bei Tier II); der Kochsalzgehalt war höher als bei 20° C, da, wie zu erwarten ist, bei höheren Wassergehalten auch mehr Kochsalz aufgenommen werden kann. Bei höheren Lagerungstemperaturen waren deshalb die Quotienten trotz niedrigerer Kochsalzgehalte höher als bei tieferen Lagertemperaturen.

Tabelle 3

Salzung von Specken bei 5° und 20° C (außen)

	nach Tagen	T = ° C	% H ₂ O	% NaCl	Q	pH
I	0	20	6,38	0,05	0,008	7,05
		5	6,42	0,05	0,008	6,95
	7	20	3,75	1,808	0,482	6,06
		5	5,59	2,315	0,414	5,90
	21	20	3,46	2,216	0,640	5,74
		5	6,19	2,671	0,665	5,78
	35	20	3,59	1,734	0,483	5,74
		5	6,49	2,686	0,414	5,60
	50	20	3,28	2,189	0,667	5,83
		5	5,98	2,371	0,396	5,98
II	0	20	6,33	0,05	0,008	6,80
		5	6,28	0,05	0,008	6,85
	7	20	3,53	2,630	0,745	5,95
		5	4,57	2,617	0,573	6,23
	21	20	3,04	2,023	0,431	5,81
		5	6,30	2,702	0,429	5,74
	35	20	3,55	1,826	0,514	5,75
		5	6,79	2,574	0,379	5,70
	50	20	3,10	2,216	0,715	5,81
		5	7,12	2,781	0,391	6,10

Zusammenfassung

1. Während einer 50—60tägigen Salzung von Speck änderten sich die Wassergehalte z. T. erheblich, und zwar weitgehend abhängig von der Temperatur.

2. Während bei einer Lagerung bei 5° C nach den anfänglichen Phasen der Entwässerung in der Regel ein Anstieg des Wassergehaltes erfolgte, trat bei einer Lagerung bei 20° C kein Wiederanstieg des Wassergehaltes ein. Die Kochsalzgehalte von bei 20° C gelagerten Specken waren stets niedriger als die der bei 5° C gelagerten Proben.

3. Der seinerzeit gültige Grenzwert von 1,5 % Kochsalz wurde in der Regel in der ersten Phase der Salzung, also während des Absinkens des Wassergehaltes, erreicht. Die für verschiedene Tiere unter gleichen Versuchsbedingungen aufgetretenen Differenzen zeigten aber, daß die durch Bindegewebsanteil und Struktur des Fettgewebes bedingte Eigenart durch die Behandlung nicht ausgeschaltet wurde.

4. Einem höheren Wassergehalt wird in der Regel ein höherer Kochsalzgehalt entsprechen; der Quotient $\frac{\% \text{ NaCl}}{\% \text{ H}_2\text{O}}$ ist jedoch von dem jeweiligen Stadium der Salzung abhängig. Da in der ersten Phase der Salzung die Wassergehalte sinken, die Kochsalzgehalte aber ansteigen, können zu diesem Zeitpunkt verhältnismäßig hohen Quotientenwerten Kochsalzgehalte entsprechen, die 1,5 % NaCl noch nicht überschritten haben. Erst mit dem gleichsinnigen Anstieg von Kochsalz und Wasser kann der Wert Q zur Begründung hoher Kochsalzgehalte beitragen.

5. Abgesehen von dem Problem der gleichmäßigen Salzung von Speck wird ersichtlich, daß in Anbetracht der oft langen Transportzeiten von einer Festsetzung engefaßter Grenzwerte mit Recht Abstand genommen wurde.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Peters, W.: Dt. Schlacht- und Viehhof-Zeitung 55, 38—41, 1955.
- 2) Peters, W.: Arch. Lebensmittelhygiene 13/14, 153—154, 1955.
- 3) Kallert, E.: Fleischwirtschaft 5, 210, 1953.
- 4) Drawe und Wurziger: Dt. Lebensm.-Rundschau 10, 235, 1953.
- 5) Callow: Theory of Curing, Rep. Food Inv. Board for 1932; zit. in Koller, R.: Salz, Rauch und Fleisch, Salzburg 1941.

kenntnislücken es zu schließen gilt, die aber zugleich bereit sind, die Forschungsergebnisse an die Praxis heranzubringen, die auf sie angewiesen ist. Doch damit ist die Funktion solcher Beiräte, die die an den Forschungsanstalten tätigen Wissenschaftler beraten sollen, nicht erschöpft. Ebenso wichtig ist die geordnete, regelmäßige Fühlung mit Forschern gleicher oder verwandter Wissensgebiete. So gesehen in ihren Aufgaben — nämlich denen einer wirklichen Raterteilung — und in ihrer weitgespannten personellen Zusammensetzung können solche Beiräte die Wirksamkeit der Forschungsanstalten und speziell der einzelnen Institute beeinflussen, befruchten, erweitern und verbreiten. Eine organische Ergänzung und im gewissen Sinne eine Zusammenfassung sollen diese Beiräte erfahren in einem Kuratorium oder Verwaltungsrat, der bei den großen Forschungsanstalten gebildet werden soll, soweit er nicht bereits besteht; diesen Kuratorien, die neben Vertretern der wirtschaftlichen Praxis und der ministeriellen Verwaltung Wissenschaftler aus dem Bereich der Hochschulen und der Max-Planck-Gesellschaft umfassen sollen, würde auch eine Mitwirkung bei der Berufung von Wissenschaftlern an die bundeseigenen Forschungsanstalten einzuräumen sein.

Aber alles, was wir tun können und tun müssen, um die personelle und sachliche Ausstattung der bundeseigenen Forschungsanstalten auf dem Sektor der Agrarwissenschaften zu verbessern, sie nach ihren äußeren Möglichkeiten, nach ihrem geistigen Rang und nach der Breite und Fruchtbarkeit ihres Wirkens den angesehensten anderen Forschungsstätten gleichzustellen und eine lebendige Verbindung mit den Forschungseinrichtungen der Hochschulen und der Max-Planck-Gesellschaft sowie mit den Trägern der verwandten Disziplinen herzustellen: alles das würde schließlich unvollständig bleiben, wenn es uns nicht gelingt, zu gegebener Zeit ein gemeinsames Dach über ihnen allen zu errichten.

Wir wollen nichts und niemanden nachahmen. Wenn wir jedoch zu einer wirksamen Zusammenfassung der Kräfte in allen weiten Verzweigungen der Landbauwissenschaften kommen wollen, dann können wir nicht dabei stehen bleiben, den bundeseigenen Einrichtungen eine Basis zu geben, die der wachsenden geistigen und ökonomischen Bedeutung der Agrarwissenschaften gerecht wird. Als erstes werden wir zu einer umfassenden und einheitlich aufgebauten Dokumentation kommen müssen. Sie ist eine der wesentlichsten Grundlagen für die immer wieder geforderte Koordinierung, die als ein sinnvolles Hand-in-Hand-Arbeiten nach freiem Entschluß und höherer Einsicht verstanden werden sollte. Ein solcher Zusammenschluß aller tragenden Kräfte der Landbauwissenschaften an den Hochschulen, in den Forschungseinrichtungen des Bundes und der Länder sowie der Wirtschaft könnte, wie er auch in dem erwähnten Gutachten gefordert wird, weit mehr sein als eine zentrale Stelle für die Verteilung von Forschungsmitteln, für die Koordinierung von Forschungsaufgaben und für die Heranziehung wertvoller Nachwuchskräfte. Es wäre eine der Bedeutung dieser jungen Wissenschaften entsprechende Repräsentation, eine auch nach außen weithin sichtbare Zusammenfassung aller Kräfte, die sich um den weiteren Ausbau dieser so wichtigen Wissensgebiete, ihren geistigen Rang neben den älteren Disziplinen, eine Synthese der in ihnen zusammenlaufenden Zweige der Geistes- und der Naturwissenschaften und um ihr internationales Gewicht bemühen. Verfehlt wäre es, an die Errichtung dieses Gebäudes überstürzt heranzugehen. Aber es ist nicht zu früh, diesen Gedanken eines auf den Grundsätzen der wissenschaftlichen Freiheit und Selbstverantwortung aufgebauten Dachorgans für die gesamte Forschung auf den weiten Gebieten der Land- und Ernährungswirtschaft gelegentlich zur Erörterung zu stellen.

Mitteilung aus der Versuchsanstalt für Getreideverwertung, Berlin

Untersuchungen über die Wirkung des p,p'-Dichlordiphenyltrichloräthan (DDT) auf Mikroorganismen und Fermente

Von M. Rohrlisch und R. Flatow

Über den Einfluß des DDT auf Mikroorganismen im allgemeinen und auf die der Teiggärung im besonderen ist wenig bekannt*). Nach *Leggieri*¹⁾, der den Einfluß von DDT auf *Saccharomyces cerevisiae* untersucht hat, wird die Triebkraft der Hefe im Teig nicht verändert. Ebenso besitzt es — wie eigene Versuche gezeigt haben — auf die Säurebildung der Sauerteigorganismen keinen Einfluß.

Da vermutet worden ist, daß die Wirkungslosigkeit des DDT auf Mikroorganismen mit seiner Unlöslichkeit im wäßrigen Milieu zusammenhängt, ist versucht

worden, den Einfluß dieser Substanz auf einige Mikroorganismen zu prüfen, indem sie in Form von Emulsionen durch Verwenden von Lösungsvermittlern an die Mikroorganismen herangebracht worden ist.

Vermehrung, Teilung und Säureerzeugung des Lactobacillus Delbrückii in Gegenwart von DDT

Als Testbakterium ist der *Lactobacillus Delbrückii* verwendet worden. Nach Bereiten einer gut angewachsenen Stammkultur in flüssiger Difco-Nährlösung sind jeweils 24 oder 24,5 ml Nährlösung mit 1,0 oder 0,5 ml steigende DDT-Mengen enthaltenden Äthanol- oder Propionsäureesters versetzt und beimpft worden.

Bei Zugabe der alkoholischen DDT-Lösung zum Substrat scheidet sich das DDT in äußerst feiner Verteilung als leichte Trübung aus. Dagegen lassen sich die Lösungen von DDT in Propionsäureäthylester bei

*) Über den quantitativen chemischen Nachweis von DDT und sein Verhalten im Mahl- und Backprozeß ist in der Arbeit von G. Brückner, R. Flatow und M. Rohrlisch, „Der quantitative chemische Nachweis von DDT in Mahl- und Backprodukten und das Verhalten des DDT im Mahl- und Backprozeß (Getreide und Mehl 7 [1957], 73), berichtet worden.

nicht zu hoher DDT-Konzentration gut mit Wasser und wäßrigen Lösungen mischen, ohne daß das zugesetzte DDT wieder ausfällt.

Die bei Bebrüten der beimpften Proben (37° C) im Verlaufe von drei Tagen gebildete Organismenzahl ist mit Hilfe der Thoma-Kammer nach der Vorschrift von Panzer²⁾ ausgezählt worden. Es hat sich gezeigt, daß mit steigender DDT-Konzentration eine Verringerung der Bakterienzahl eintritt (Tab. 1). Allerdings wird die Zahl der Bakterien auch durch das verwendete Lösungsmittel herabgesetzt, jedoch nicht in so starkem Maße wie bei gleichzeitiger Anwesenheit von DDT.

Tabelle 1

Einfluß des DDT auf Bakterienvermehrung			
DDT mg	Athanol ml	Difco-Lsg. ml	Zahl der Bakterien 10 ⁶ /ml
0	0	25	733
0	1	24	370
0,5	1	24	130
1,0	1	24	187
2,5	1	24	113
5,0	1	24	106
	Propionsäure-Äthylester ml		
0	0	25	770
0	0,5	24,5	330
0,2	0,5	24,5	285
0,4	0,5	24,5	278
1,0	0,5	24,5	197
2,0	0,5	24,5	125

Charakteristischer als die Vermehrungshemmung ist das mikroskopische Bild. Während die Bakterien auf reiner Difco-Lösung, auch unter Zusatz von Alkohol und Propionsäureäthylester normales Aussehen zeigen, treten sie auf DDT-haltigen Lösungen hauptsächlich als auffällig lange, ein Vielfaches der normalen Länge aufweisende, z. T. gewundene und gekrümmte, fadenförmige Gebilde in Erscheinung. Normale Stäbchen sind so gut wie nicht zu erkennen. Das veränderte Aussehen geben Abb. 2a und 2b gegenüber Abb. 1 wieder, die Bakterien normaler Länge zeigt.

Die verminderte Vermehrung und die morphologischen Veränderungen der im DDT-haltigen Nährsubstrat gewachsenen Bakterien haben die Vermutung nahegelegt, daß diese Bakterien auch in ihrem Stoffwechsel, also ihrer Milchsäureproduktion, Veränderungen aufweisen. Deshalb ist auch jeweils die Menge der gebildeten Milchsäure ermittelt worden. Für diese

Untersuchungen ist die nach Bestimmungsmethode nach Rohrlisch und Eßner³⁾ angewendet worden, die auf Arbeiten von v. Fürth und Charnas⁴⁾ zurückgeht.

Dabei hat sich ergeben, daß die Milchsäurebildung der Bakterien trotz verändertem Aussehen und verminderter Bakterienzahl nicht gehemmt wird, d. h. daß der bakterielle Stoffwechsel durch das DDT unbeeinflusst bleibt. (Tab. 2).

Tabelle 2

Einfluß des DDT auf die Milchsäurebildung des Lactobac. Delbrückii

DDT mg	Athanol ml	Difco-Lsg. ml	Milchsäure mg
0	0	25	190
0	1	24	165
0,5	1	24	168
1,0	1	24	168
2,5	1	24	167
5,0	1	24	166
	Propionsäure-äthylester ml		
0	0	25	178
0	0,5	24,5	185
0,2	0,5	24,5	187
0,4	0,5	24,5	185
1,0	0,5	24,5	176
2,0	0,5	24,5	185

Die auffallenden morphologischen Veränderungen der Bakterien sind offenbar auf Zellteilhemmungen zurückzuführen. Die Bakterien wachsen und produzieren die dem Wachstum entsprechende Menge Milchsäure, verlieren aber durch den DDT-Zusatz die Fähigkeit zur Teilung.

Ähnliche Erscheinungen, nämlich Auftreten fadenförmiger Zellen und unveränderten Bakterienstoffwechsel haben Katchman und Mitarb.⁵⁾, Spoerl und Mitarb.⁶⁾ sowie Loveless und Mitarb.⁷⁾ nach Einwirken von 5-Diazouracil und von Röntgenstrahlen auf Escherichia coli beobachtet.

Auch Rohrlisch⁸⁾ hat eine solche Zellteilhemmung an Sauerteigbakterien nach Zusatz von Natriumazid beschrieben, allerdings ist dabei die Säurebildung stark gehemmt gewesen.

Einfluß des DDT auf das Wachstum von Neurospora crassa

Die Neurospora crassa gehört als Pilz zur Klasse der Ascomyceten. Sie wird wegen ihres guten Wachstums gern zu Versuchen herangezogen. Daher hat der Ge-

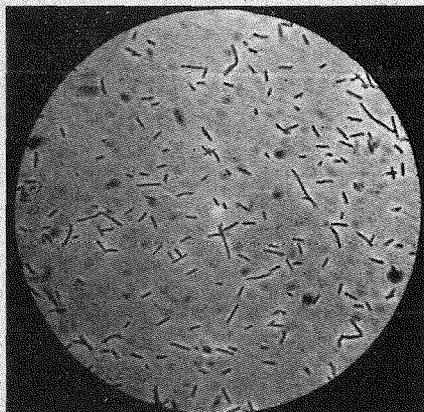


Abb. 1: Lactobacillus Delbrückii. Normales Wachstum.

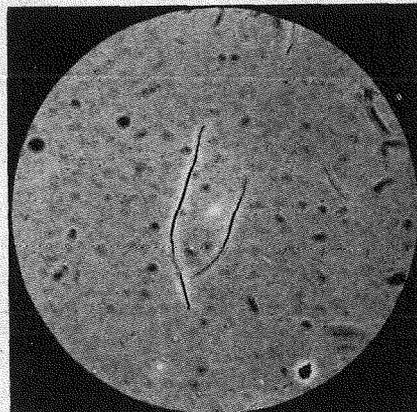


Abb. 2a: Lactobacillus Delbrückii in Gegenwart von DDT.

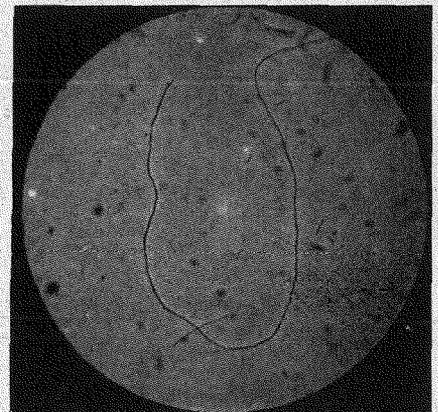


Abb. 2b: Lactobacillus Delbrückii in Gegenwart von DDT.

danke nahe gelegen, den Einfluß des DDT auch auf das Wachstum dieses Pilzes zu untersuchen.

Die *N. crassa* ist auf flüssigem Malzextrakt gezogen und DDT dem Nährboden in Mengen von 0—10 mg, in Äthanol oder Propionsäureäthylester gelöst, zugesetzt worden. Das 16 Tage nach Beimpfen und Bebrüten bei 30° C gebildete Mycel hat aber weder bei Verwenden von Äthanol als DDT-Lösungsmittel noch gegenüber dem der Kontrollproben ohne Äthanol- und DDT-Zusatz einen Unterschied gezeigt. Selbst DDT-Zusätze von 10 mg haben keinen Einfluß auf das Wachstum der *N. crassa* gehabt.

Bei Verwenden von Propionsäureäthylester mit und ohne DDT ist auch nach längerer Bebrütungszeit eine vollständige Hemmung des Wachstums der *N. crassa* beobachtet worden. Die Hemmung ist demnach auf den Zusatz des Propionsäureäthylesters zurückzuführen.

Einfluß des DDT auf das Fettspaltungsvermögen von Candida lipolytica

Da DDT gut in Fetten löslich ist, ist für weitere Untersuchungen eine Hefe verwendet worden, die die Fähigkeit besitzt, Fette zu spalten, die *Candida lipolytica*. Sie wächst auf einem dünnen, festen Malzextrakt-Nährboden und vermag nach *Eykman*⁹⁾ Fette zu spalten, die sich unterhalb der dünnen Nährbodenschicht befinden. Die gebildeten freien Fettsäuren können durch Titration quantitativ bestimmt werden.

Zur Ermittlung des DDT-Einflusses sind in frisch ausgelassenem flüssigem Rindertalg verschiedene Mengen DDT gelöst worden, so daß 1 g festes Rinderfett 50, 200, 500, 1000 oder 10 000 γ DDT enthält. Je 1 g der DDT-haltigen Fette ist in Petrischalen durch leichtes Erwärmen gelöst und so verteilt worden, daß es in erstarrtem Zustand die Böden der Schalen in einer dünnen Schicht bedeckt. Diese feste Fettschicht wurde dann mit 10 ml Malzwürze-Agar (gerade noch gießfähig) überschichtet. Nach Erstarren des Agar wird die Nährbodenoberfläche mit 0,1 ml einer *C. lipolytica*-Suspension mit einem Trigalski-Spatel durch Verteilen beimpft.

Die Proben sind anschließend 3 Tage bei 27° C in den Gärschrank gestellt und die gebildete Menge freier Fettsäure durch Titration des in Äthanol/Äther gelösten Fettes mit eingestellter 0,1 n methanolischer KOH gegen Phenolphthalein bestimmt worden (Tab. 3).

Tabelle 3
Fettspaltung in Gegenwart von DDT

Fett g	DDT γ	0,1 n KOH ml
1	0	9,51
1	0	9,29
1	50	10,99
1	200	9,26
1	500	10,01
1	1000	10,65
1	10000	10,42

Aus Tab. 3 geht hervor, daß das Fettspaltungsvermögen der *Candida lipolytica* durch DDT nicht beeinflusst wird. Geringe auftretende Differenzen im Laugenverbrauch sind durch die Methode begründet (nicht ganz gleichmäßige Beimpfung und ungleichmäßiges Wachstum während der dreitägigen Bebrütung).

Die Wirkung des DDT auf Fermente

Der Einfluß des DDT auf Fermentsysteme ist verschiedentlich untersucht worden. Nach Untersuchungen von *Keller*¹⁰⁾ ist DDT ohne Wirkung auf Serumcholinesterase, Acetylcholinesterase, Blutkatalase und auf die fermentative Reduktion von o-Dinitrobenzol zu Phenylhydroxylamin. *Judah*¹¹⁾ berichtet ebenfalls über negativ verlaufene Untersuchungen bei Aldolase, Adenosintriphosphatase, Glutaminsäurehydrogenase, Cholinoydase, Hexokinase und Bernsteinsäureoxydase (letztere reagiert nach *Johnston*¹²⁾ positiv). Andererseits hat *Keller* eine Hemmwirkung des DDT auf Carbonanhydrase beobachtet und damit bereits frühere Untersuchungen von *Torda* und *Wolff*¹³⁾ bestätigt. *Keller* hat diese Wirkung des DDT zu einem enzymatischen Nachweisverfahren ausgearbeitet.

Torda und *Wolff*¹⁴⁾ berichten ferner über den hemmenden Einfluß des DDT auf die Oxalessigsäure- und Brenztraubensäure-Carboxylase. Allerdings sind die Mengen DDT, die hier eine Hemmung hervorrufen, recht groß (3,54—345 mg). *Johnston* und *Torda* und *Wolff*¹⁵⁾ teilen auch Beobachtungen über den Einfluß des DDT auf das Bernsteinsäure-Oxydase-System und das Cytochrom-Oxydase-System mit. Bemerkenswerterweise steht hierbei einem von *Johnston* gefundenen hemmenden Einfluß auf das Cytochrom-Oxydase-System eine von *Torda* und *Wolff* gefundene aktivierende Wirkung gegenüber. Beide Autoren verwenden bei ihren Beobachtungen zwar das DDT in etwa gleichen Konzentrationen, doch ist es dem Substrat einmal in Form wäßriger Emulsion und ferner in alkoholischer Lösung sowie als Fettemulsion zugesetzt worden, was die aufgetretene Diskrepanz vielleicht erklärt. Daraus ist ersichtlich, welche große Rolle die Lösungsform des DDT spielt.

Nach *Ludwig*, *Basa* und *Cali*¹⁶⁾ wird auch die Cytochrom-Oxydase-Aktivität von Mehlwürmern und Kellerrasseln durch DDT beeinflusst. *Sacktor*¹⁷⁾ hat beobachtet, daß DDT-resistente Fliegen eine erhöhte Cytochrom-Oxydase-Aktivität aufweisen und führt die größere Widerstandskraft solcher Fliegen darauf zurück. Andere Autoren schreiben die Resistenz der Fähigkeit zu, DDT fermentativ in das weniger toxische DDE (Dichlordiphenyldichloräthan) umzuwandeln. Arbeiten hierüber, unter Verwendung von ¹⁴C markiertem DDT, liegen von *Robbins* und *Dahm*¹⁸⁾ vor.

Nachdem *Keller*¹⁹⁾ auch einen aktivierenden Einfluß des γ HCH auf die Leberesterase beobachtet hat und sich dieses Effektes für die enzymatische Analyse von γ HCH bedient hat, ist es zweckmäßig erschienen, auch die Wirkung des DDT zu untersuchen.

Die Wirkung des DDT auf Leberesterase

Die für die Versuche verwendete Leberesterase ist nach den Angaben von *Willstätter* und *Memmen*²⁰⁾ aus frischer Schweineleber hergestellt worden.

Für die Versuche sind verschieden konzentrierte Lösungen von DDT in Propionsäureäthylester verwendet worden, von denen jeweils 0,1 ml in 5 ml 0,05 n NaHCO₃-Lösung (aqua bidest.) so gelöst worden sind, daß die Versuchsansätze 0, 50, 100, 200, 300 und 400 γ DDT enthalten haben. Nach 20 min Temperaturengleich im Thermostaten bei 25° C ist durch Zugabe von 0,1 ml Leberesterase-Lösung gleicher Aktivität (3,5

Einheiten) die esterspaltende Reaktion in Gang gebracht und die pH-Änderungen in den Proben potentiometrisch (Metrohmgerät, Glaselektrode) gemessen worden. Der sich ständig ändernde pH-Wert der Lösungen ist über einen Zeitraum von 20 min jede Minute abgelesen worden.

Es hat sich gezeigt, daß der DDT-Zusatz die Esterspaltung wenig beeinflusst. In der folgenden Abb. 3 sind als Beispiel die pH-Zeit-Kurven der Esterspaltung ohne DDT und unter Zusatz von 200 γ DDT abgebildet. Bei geringeren Zusätzen sind die erhaltenen Unterschiede noch geringfügiger. Eine starke, über mehrere Zehntel pH-Wert-Einheiten sich erstreckende Abweichung, ist nicht festzustellen gewesen.

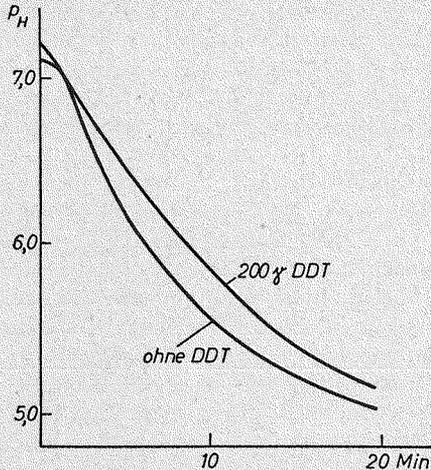


Abb. 3: Wirkung von DDT auf die Spaltung von Propionsäureäthylester durch Leberesterase in NaHCO_3 -Lösung.

Außer bei Verwenden von NaHCO_3 ist der Ablauf der enzymatischen Esterspaltung auch in rein wäßriger Lösung (CO_2 -frei) untersucht worden. Sofort nach Beginn der Reaktion tritt hier ein steiler pH-Abfall ein, der nicht wie bei Verwenden von NaHCO_3 „gebremst“ wird. Auch hier zeigt sich, daß die enzymatische Reaktion durch DDT kaum beeinflusst wird (Abb. 4). Als Beispiel für einen Hemmungseffekt sind analoge Versuche unter Zusatz von Coffein durchgeführt worden, die dabei erhaltene charakteristische pH/Zeit-Kurve ist ebenfalls in Abb. 4 gezeigt.

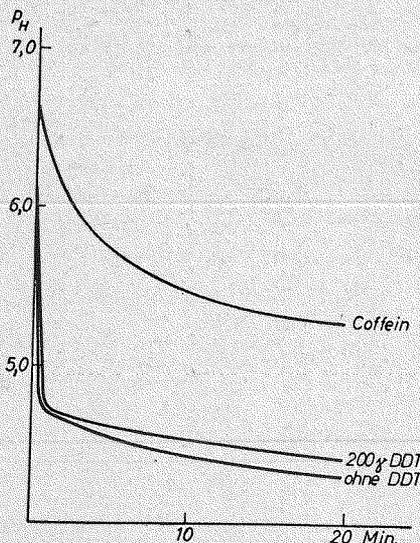


Abb. 4: Wirkung des DDT und Coffeins auf die Spaltung des Propionsäureäthylesters durch Leberesterase in wässriger Lösung.

Der Verlauf der enzymatischen Esterspaltung bei Gegenwart von DDT ist auch, wie von Keller für γ HCH angegeben, colorimetrisch verfolgt worden. Die dabei erhaltenen Ergebnisse bestätigen die durch potentiometrische Messungen erhaltenen und lassen gleichfalls erkennen, daß DDT auf die enzymatische Spaltung von Propionsäureäthylester durch Leberesterase keinen wesentlichen Einfluß besitzt.

Die Wirkung des DDT auf die Glutaminsäuredecarboxylase des Weizens

Über die Wirkung des DDT auf Mehlfermente ist bisher nichts bekannt geworden. Im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte Versuche haben ergeben, daß weder die Aktivität der Amylasen noch der Proteasen des Weizenmehles verändert ist. Eine in diesem Zusammenhang erfolgte Überprüfung der Wirkung des DDT auf Papain hat gleichfalls keine Aktivitätsverschiebung ergeben.

Einen merklichen Einfluß besitzt dagegen das DDT auf die Glutaminsäuredecarboxylase des Getreides, die erstmalig von Rohrich und Rasmus²¹⁾ nachgewiesen worden ist. Die Aktivität dieses Fermentes in Weizenkeimextrakten läßt sich durch manometrische Messung (Warburg-Apparat) des bei der Reaktion mit Glutaminsäure entstehenden CO_2 bestimmen. Die Glutaminsäure wird dabei zu γ -Aminobuttersäure umgewandelt. Als Optimum der Reaktion ist der pH-Bereich von 5,5–5,8 und die Temperatur von 27° C ermittelt worden.

Die für die Versuche verwendeten Fermentextrakte sind folgendermaßen hergestellt worden: 2,5 g Weizenkeime werden eine Stunde lang mit 12,5 ml Phosphatpuffer (nach Sørensen) vom pH 5,6 ausgezogen; die Aufschlammung wird anschließend zentrifugiert. 5 ml des klaren Extraktes werden mit 15 ml des gleichen Puffers verdünnt und 2 ml als Enzymlösung verwendet; diese entsprechen einer aus 100 mg Keimen stammenden Fermentmenge.

Zur Aktivitätsbestimmung werden diese 2 ml des Enzymextraktes in die Hauptgefäße der Warburg-Manometer und 0,5 ml 0,1 n Glutaminsäurelösung in die seitlichen Ansätze gefüllt. Die Messung erfolgt bei einer Reaktionstemperatur von 27° C, indem nach Einsetzen der Reaktion erst in Abständen von 15 min, später von 30 min die bei der Decarboxylierung freigewordene CO_2 -Menge abgelesen wird. Nach 4 Std. ist die Reaktion meist beendet, die CO_2 -Werte steigen nicht mehr wesentlich an.

Da das DDT in Wasser nicht löslich ist, ist versucht worden, es in Form einer Suspension zuzugeben, wie sie erhalten wird, wenn eine acetonsche Lösung mit Wasser verdünnt wird. Äthanol läßt sich nicht verwenden, da es die enzymatische Reaktion vollständig hemmt.

Im einzelnen ist folgendermaßen verfahren worden: 10 mg DDT werden in 1 ml Aceton gelöst und zu 0,1 ml dieser Lösung 9,9 ml Wasser zugesetzt. 0,1 ml der so erhaltenen gleichmäßig getrübbten Suspension, die 10 γ DDT enthält und einen Acetongehalt von 1% aufweist, werden der im Seitenarm befindliche Glutaminsäure zugefügt. Durch Variieren der Einwaage sind außerdem Messungen mit Zusätzen von 2, 5 und 8 γ DDT und zum Vergleich solche an Extrakten ohne

DDT-Zusatz unter Ergänzung mit 0,1 ml 10%ig. Aceton durchgeführt worden.

Abb. 5 zeigt die mit 0, 2, 5, 8 und 10 γ DDT und die in Gegenwart von Äthanol erhaltenen Reaktionskurven. Aus ihnen wird ersichtlich, daß schon sehr geringe Mengen DDT einen aktivierenden Einfluß auf die enzymatische Decarboxylierung der Glutaminsäure besitzen. Diese Aktivierung nimmt, wenn auch nicht sehr gleichmäßig, mit steigenden DDT-Mengen zu. Äthanol hemmt die Aktivität der Decarboxylierung nahezu vollständig.

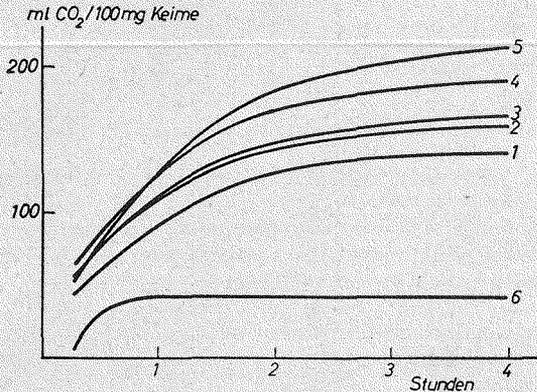


Abb. 5: Aktivierender Einfluß steigender DDT-Zusätze auf die Glutaminsäuredecarboxylase.

- 1 = ohne DDT
- 2 = mit 2 γ DDT
- 3 = mit 5 γ DDT
- 4 = mit 8 γ DDT
- 5 = mit 10 γ DDT
- 6 = mit 0,1 ml Äthanol.

Eine Steigerung der DDT-Konzentration über 10 γ hinaus ist ohne gleichzeitige Erhöhung der Acetonmenge nicht möglich. Bei Verwendung von 10%iger Acetonkonzentration gelingt es, Suspensionen mit einem Gehalt bis zu 20 γ DDT in 0,1 ml zu erhalten. Überraschenderweise beeinflussen jedoch solche Zusätze von 10 und 20 γ DDT die enzymatische Decarboxylierung fast überhaupt nicht, was vielleicht auf die erhöhte Acetonkonzentration zurückzuführen ist.

Die bisher beschriebenen Versuche sind ohne Zusatz von Pyridoxalphosphat, dem Coferment der Aminosäuredecarboxylase, durchgeführt worden. Daß die Reaktion auch ohne Zusatz von Pyridoxalphosphat abläuft, liegt offenbar daran, daß im Getreidekorn

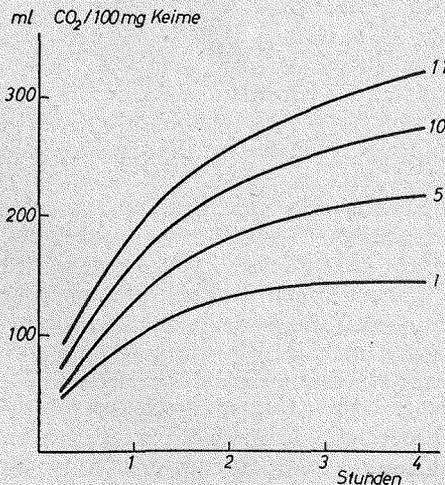


Abb. 6: Aktivierender Einfluß des DDT auf die Glutaminsäuredecarboxylase in Gegenwart von Pyridoxalphosphat (PP).

- 1 = ohne DDT
- 5 = mit 10 γ DDT
- 10 = ohne DDT + 100 γ PP
- 11 = mit 10 γ DDT + 100 γ PP.

und auch in den verwendeten Weizenkeimen stets Pyridoxylphosphat enthalten ist. Da Pyridoxalphosphat als Coferment die optimale Fermentaktivität hervorrufen muß, ist erwartet worden, daß DDT in Gegenwart des Pyridoxalphosphates keinen aktivierenden Einfluß mehr besitzt. Wie aber die Reaktionskurven in Abb. 6 zeigen, tritt auch hier noch eine weitere Aktivierung auf.

Bei Aufbewahren der Weizenkeime im normalen Tageslicht statt im Dunkel des Eisschranks tritt nach Rohrlisch²²⁾ eine Aktivierung der Glutaminsäuredecarboxylase ein, die nach etwa 40 Tagen ihren Höhepunkt erreicht.

Um zu beobachten, ob DDT-Zusätze auch die Fermentaktivität in Extrakten aus belichteten Keimen erhöhen, ist analog den vorangegangenen Untersuchungen die Aktivität von Extrakten aus Keimen zum Zeitpunkt der durch Belichtung verursachten maximalen Aktivität nach Zugabe von 10 γ DDT gemessen worden. Der Zusatz von DDT hat die Aktivität der belichteten Keime aber nur noch unwesentlich geändert.

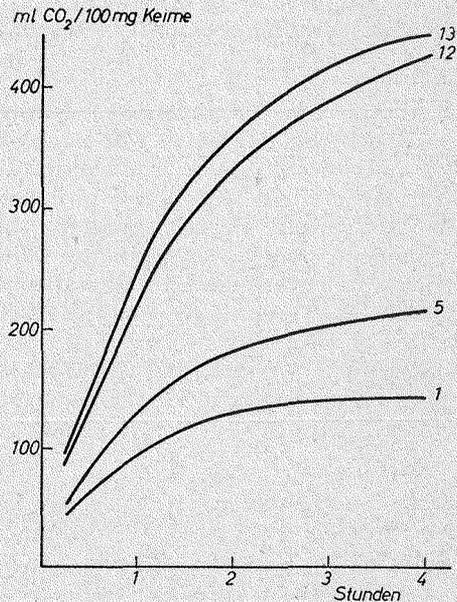


Abb. 7: Einfluß des DDT auf die Glutaminsäuredecarboxylase aus belichteten Weizenkeimen.

- 1 = aus normalem Weizen
- 5 = aus normalem Weizen nach Zusatz von 10 γ DDT
- 12 = aus belichteten Keimen
- 13 = aus belichteten Keimen nach Zusatz von 10 γ DDT.

Wie ein Vergleich der durch DDT hervorgerufenen Aktivierung der Reaktion bei normalen Keimen, bei normalen Keimen mit Pyridoxalphosphatzusatz und bei belichteten Keimen zeigt (Abb. 7), wird die Aktivierung durch DDT immer schwächer, je stärker die Reaktion an sich schon verläuft. DDT ruft nur dann eine Aktivierung der Reaktion hervor, wenn diese selbst nur einen relativ schwachen Verlauf besitzt. Wird die Reaktion durch andere Einflüsse aktiviert (Pyridoxalphosphat, Belichtung), fällt die zusätzliche Aktivierung der Reaktion durch DDT kaum noch ins Gewicht.

Für die aktivierende Wirkung des DDT auf die Glutaminsäuredecarboxylase läßt sich noch keine Erklärung finden, da nicht verständlich wird, in welcher Weise es in den Reaktionsmechanismus eingreift. Für

die Vermutung, daß durch den Zusatz von DDT γ -Aminobuttersäure aus dem Reaktionsgleichgewicht entfernt und dadurch die Reaktion weitergeführt wird, hat sich kein experimenteller Beweis führen lassen, da der Zusatz von γ -Aminobuttersäure statt der erwarteten Reaktionshemmung eine deutliche Aktivierung der enzymatischen CO_2 -Bildung verursacht. Eine Bindung der γ -Aminobuttersäure an das DDT und ihre Entfernung aus dem Reaktionsgleichgewicht findet somit nicht statt. Die aktivierende Wirkung des DDT muß also auf anderen Effekten beruhen.

Weitere Versuche haben gezeigt, daß auch γ -HCH die Aktivität der Glutaminsäuredecarboxylase fördert, wenn auch nicht ganz so stark wie DDT. Der Mechanismus der beschriebenen Reaktionen ist also noch vollkommen unklar. Die unspezifische Aktivierung der Glutaminsäuredecarboxylase durch Substanzen wie DDT und HCH machen es aber wahrscheinlich, daß es mehr physikalische Einflüsse (Oberflächenwirkung) sind, die Aktivitätsveränderungen hervorrufen. Um die Faktoren und Einflüsse, die für die Aktivierung der Decarboxylierung der Glutaminsäure durch DDT von Bedeutung sind, zu erkennen, werden noch eingehende Untersuchungen erforderlich sein.

Zusammenfassung

1. DDT, in Äthanol oder Propionsäureäthylester gelöst und dem Nährboden zugesetzt, ruft morphologische Veränderungen des *L. Delbrückii* hervor. Die Bakterien, die auf reinem Nährboden auch unter Zusatz von Äthanol und Propionsäureäthylester normales Aussehen zeigen, treten in DDT-haltigen Lösungen als fadenförmige Gebilde auf. Eine Hemmung der Milchsäurebildung ist nicht beobachtet worden.
2. DDT besitzt keine Wirkung auf das Wachstum von *Neurospora crassa* oder das Fettspaltungsvermögen der *Candida lipolytica*.
3. Auf die Spaltung von Propionsäureäthylester durch Leberesterase ist DDT ohne merklichen Einfluß.
4. Die Glutaminsäuredecarboxylase aus Weizenkeimen erfährt in Gegenwart von DDT eine mit der zugesetzten Menge (bis 10 γ) steigende Aktivierung, aber nur dann, wenn die Aktivität des Fermentextraktes gering ist. Worauf die Aktivierung, die unspezifisch ist, beruht, hat sich bisher nicht feststellen lassen.

LITERATUR:

- 1) G. Leggieri, *Ricerca sci.* 20 (1950) 478.
- 2) W. Panzer, *Z. Lebensm.-Unters. u. -Forsch.* 91 (1950) 93.
- 3) M. Rohrlich u. W. Eßner, *Brot u. Gebäck* 5 (1951) 85.
- 4) O. v. Fürth u. D. Charnas, *Biochem. Z.* 26 (1910) 199.
- 5) B. J. Katchman, E. Spoerl u. H. E. Smith, *Scienc (New York)* 121 (1955) 97.
- 6) E. Spoerl, L. E. Loveless, T. H. Weismann u. R. J. Balske, *J. Bacteriol.* 67 (1954) 394.
- 7) L. E. Loveless, E. Spoerl u. T. H. Weisman, *J. Bacteriol.* 68 (1955) 637.
- 8) M. Rohrlich, *Z. Lebensm.-Unters. u. -Forsch.* 96 (1953) 24.
- 9) C. Eykman, *Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt.* 29 (1901) 841.
- 10) H. Keller, *Naturwiss.* 39 (1952) 109.
- 11) J. D. Judah, *Brit. J. Pharmacol. Chemotherapy* 4 (1949) 120.
- 12) C. D. Johnston, *Arch. Biochem. Biophysics* 31 (1951) 375.
- 13) C. Torda u. H. G. Wolff, *J. Pharmacol. exp. Therapeut.* 95 (1949) 444.
- 14) C. Torda u. H. G. Wolff, *J. Pharmacol. exp. Therapeut.* 98 (1950) 358.
- 15) C. Torda u. H. G. Wolff, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 74 (1950) 744.
- 16) D. Ludwig, M. C. Basa u. C. T. Cali, *Ann. entomol. Soc. America* 48 (1955) 165.
- 17) B. Sacktor, *J. econ. Entomol.* 43 (1950) 832.
- 18) W. E. Robbins u. P. A. Dahm, *J. agr. Food Chem.* 3 (1955) 500.
- 19) H. Keller, *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* 295 (1953) 15.
- 20) R. Willstätter u. F. Memmen, *Hoppe-Seylers, Z. physiol. Chem.* 138 (1924) 216.
- 21) M. Rohrlich u. R. Rasmus, *Naturwiss.* 43 (1956) 88; *Z. Lebensm.-Unters. u. -Forsch.* 104 (1956) 313.
- 22) M. Rohrlich, *Z. Lebensm.-Unters. u. -Forsch.* 105 (1957) 189.

Aus dem Chemisch-Physikalischen Institut der Bundesforschungsanstalt für Fleischwirtschaft in Kulmbach

Über die Wirkung von Ascorbinsäure auf die Bildung und Stabilität von NO-Hämoglobin und NO-Myoglobin

Von R. Grau und A. Böhm

Im Pökelprozess wird entweder aus Salpeter durch bakterielle Tätigkeit über Nitrit und salpetrige Säure oder unmittelbar aus Nitriten Stickoxyd freigesetzt, das sich mit Myoglobin zu Nitrosomyoglobin, dem Farbstoff des Pökelfleisches verbindet. Die Freisetzung des Stickoxyds aus den gebildeten bzw. gebotenen Nitriten ist abhängig von anwesenden reduzierenden Substanzen, von der Acidität und der Temperatur. Diese Bedingungen werden in der Regel durch die Verhältnisse im Fleisch und in der Lake erfüllt. Dabei ist die Zeit ein wesentlicher Faktor.

Läßt man auf salpetrige Säure Ascorbinsäure einwirken, entsteht Stickoxyd, entsprechend der Gleichung:



Das gebildete Stickoxyd kann in der genannten Weise mit Myoglobin Nitrosomyoglobin bilden. Die

Gleichung zeigt, daß durch Zusatz von Ascorbinsäure die Menge des freien Nitrits herabgesetzt wird. Zu einer Reduktion von Nitrat ist Ascorbinsäure, wie auch durch Versuche nachgeprüft wurde, nicht befähigt. Wäßrigen, Kochsalz und Nitrat enthaltenden Lösungen wurde Ascorbinsäure zugesetzt; bei den sofort nach dem Zusatz und in Abständen von 1, 2, 3, 6, 8, 9, 10 und 12 Tagen durchgeführten Nitritbestimmungen mit Grieb'schem Reagens konnte eine Bildung von Nitrit aus dem Nitrat nicht festgestellt werden. Versuche mit Na-Ascorbinat lieferten das gleiche Ergebnis. Auch in wäßrigen Fleischextrakten konnte weder durch Ascorbinsäure noch durch Na-Ascorbinat eine Reduktion von Salpeter unter den genannten Bedingungen festgestellt werden.

Die meisten Untersuchungen über das Verhalten der Häm pigmente im allgemeinen wie auch über die