

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Band: 62 (1971)
Heft: 4

Artikel: Der Einfluss von Konservierungsmitteln auf die Biosynthese der Nucleinsäuren und auf den Eiweissgehalt der Tierzelle in der Gewebezüchtung
Autor: Krauze, Stanislaw / Fitak, Bohdan / Krauze, S.
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-983582>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 06.10.2024

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Der Einfluß von Konservierungsmitteln auf die Biosynthese der Nucleinsäuren und auf den Eiweißgehalt der Tierzelle in der Gewebezüchtung*

Stanislaw Krauze und Bohdan Fitak

Lehrstuhl für Lebensmittelforschung der Medizinischen Akademie und Pharmazeutischen Fakultät in Warschau. Direktor: Prof. Dr. S. Krauze

Die Erdbevölkerung wird, wenn ihr gegenwärtiger Zuwachs anhält, um das Jahr 2000 rund sechs bis sieben Milliarden zählen. Für eine so außerordentlich große Zahl von Menschen stellt sich das grundsätzliche Problem der Ernährung. Die wissenschaftliche Forschung sucht dieses Problem in zwei Arbeitsrichtungen zu lösen:

- durch die Suche nach neuen Lebensmitteln und
- durch die Haltbarmachung bereits vorhandener Lebensmittel.

Bei der zweiten Richtung spielen neben den physikalischen Methoden die chemischen Konservierungsmittel eine große Rolle. Ihr Einsatz ist ein unerläßliches Uebel. Sie können nicht nur die Mikroorganismen, sondern gleichzeitig auch höher entwickelte Organismen beeinflussen. Ueber den Mechanismus dieses Einflusses von Konservierungsmitteln sind schon viele Arbeiten veröffentlicht worden. Auch die von der FAO/WHO eingesetzte Kommission zur Vorbereitung des Lebensmittel-Weltcodex beschäftigt sich mit dieser Frage.

Die vorliegende Arbeit sucht den Einfluß von Konservierungsmitteln auf die Biosynthese der Nucleinsäuren und auf den Eiweißgehalt der tierischen Zelle zu ergründen. Außer einigen gesetzlich nicht anerkannten Konservierungsmitteln wurden insbesondere 27 durch polnische Durchführungsverordnungen zugelassene, bei den Untersuchungen eingesetzt (Gesetzesblätter Nr. 68/1931, Pos. 559; Nr. 40/1949, Pos. 289 und Nr. 19/1951, Pos. 158).

Zu unseren Forschungen diente eine primäre Schichtzucht von Mäuse-Embryonalzellen (Fibroblasten) (1, 2); zu ihrer Anlegung wurden trächtige weiße Mäuse vom Stamm BALB/c sowie Zuchtflüssigkeit RTN vom pH = 7,0, geliefert durch die Produktionsanstalt von Serum- und Impfstoffen in Lublin, verwendet. Letztere hatte folgende quantitative Zusammensetzung:

Natriumchlorid, Kaliumchlorid, Magnesiumsulfat, Magnesiumchlorid, Calciumchlorid, Dinatriumhydrogenphosphat, Kaliumdihydrogenphosphat, Glucose, Phenolrot, Natriumhydrogencarbonat, 0,5 % Laktalbuminhydrolysat, 2 % Kälberserum, 72 000 E/Liter Penicillin und 60 mg/Liter Streptomycin.

Zur Anreicherung des RTN bedienten wir uns einer eigenen Modifikation, bestehend in einer Erhöhung der Laktalbuminhydrolysatmenge (bis ca. 11 %), im Zusatz von — im ursprünglichen Präparat nicht vorhandenem — L-Glutamin (200 mg/Liter Zuchtflüssigkeit) und von 1 % Mesoinositol. Das angereicherte RTN sicherte optimale Verhältnisse für den Zellenzuwachs. Man züchtete die Tierzellen

* Auszug aus der Doktorarbeit von *Bohdan Fitak*. Diese Arbeit wurde Herrn Prof. Dr. *L. Schmid*, Wien, anlässlich seines siebenzigsten Geburtstages gewidmet.

in Roux-Flaschen bei 37 ° C während sieben Tagen. Am vierten Tage nach der Zuchtanlegung wurde das in der Zuchtflüssigkeit gelöste Konservierungsmittel zugegeben. Parallel dazu führten wir eine Kontrollzucht auf dem gleichen Material (Mäusefibroblasten) und unter den selben Bedingungen, jedoch ohne Zusatz von Konservierungsmitteln, durch.

Nach Beendigung der Zucht isolierten wir aus dem Zuchtgewebe die Nucleinsäuren nach *Schneider* (3), und zwar durch Reinigung des untersuchten Materials bei unterhalb + 4 ° C mit 5%iger Trichloressigsäure, Zentrifugieren, Auswaschen der Trichloressigsäure-Reste mit Aethanol, nochmaliges Zentrifugieren, durch Extraktion des Fettes mit Aether und durch Hydrolyse mit 5%iger Trichloressigsäure bei 90 ° C während 15 Minuten. Unter diesen Bedingungen lösen sich in der Trichloressigsäure (Supernatant) die Hydrolysatprodukte der Nucleinsäuren, während die Eiweißstoffe im Bodensatz bleiben. Nach erneutem Zentrifugieren löste man das Eiweiß in 0,1-n Natriumhydroxid und bestimmte es nach *Folin* (4). Im Supernatant, bestehend aus einer Mischung von Hydrolyseprodukten der Nucleinsäure, bestimmten wir die Ribonucleinsäure (RNS) mit der Orzinolmethode (5) und die Desoxyribonucleinsäure (DNS) mit Diphenylamin (6). Die Eichkurven wurden für RNS mit Arabinose, für DNS mit 2-Desoxyribose und für Eiweiß auf Basis des Albumins aus Rinderblut ermittelt. Zur Berechnung der RNS-Menge benutzten wir den Koeffizienten 4,319, zu derjenigen der DNS-Menge den Koeffizienten 4,67. Die Resultate sind in mg pro g Trockenmasse der Zellen und in Prozenten der Kontrollzucht angegeben. Die Trockenmasse wurde bei 105 ° C bestimmt.

Die Versuchsergebnisse zeigen, daß die folgenden Konservierungsmittel keinen Einfluß auf die Biosynthese der Nucleinsäuren und das Tierzelleneiweiß ausübten: Nitrate, Nitrite und Sulfite (Tabelle 1), Benzoesäure, Salicylsäure und *o*-Chlorbenzoesäure (Tabelle 2), Sorbinsäure und Ameisensäure (Tabelle 3) sowie *m*-Hydroxybenzoesäure und *m*-Chlorbenzoesäure (Tabelle 4). Im Falle der Nitrate, Nitrite und Sulfite (Tabelle 1) hatte auch das Kation (Natrium oder Kalium) keine erkennbare Wirkung.

Tabelle 1

Einfluß der Nitrate, Nitrite und Sulfite auf die Biosynthese der Nucleinsäuren und den Eiweißgehalt der Fibroblasten von Mäuseembryonen in Schichtzucht

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|-----------------|-----|------|------|-------|------|------|-------|-------|-------|-------|
| Natriumnitrat | 0,2 | 31,2 | 31,0 | 99,4 | 14,7 | 14,6 | 99,3 | 437,1 | 440,5 | 101,8 |
| Kaliumnitrat | 0,2 | 33,0 | 33,5 | 101,5 | 15,1 | 15,0 | 99,3 | 485,3 | 481,7 | 99,3 |
| Natriumnitrit | 0,2 | 36,1 | 35,8 | 99,2 | 16,8 | 16,8 | 100,0 | 467,1 | 472,3 | 101,1 |
| Kaliumnitrit | 0,2 | 30,8 | 28,9 | 93,8 | 13,7 | 13,8 | 100,7 | 457,8 | 451,1 | 98,5 |
| Natriumsulfit | 0,2 | 34,2 | 34,0 | 99,4 | 15,9 | 16,1 | 101,3 | 439,9 | 430,0 | 97,8 |
| Kaliumsulfit | 0,2 | 34,5 | 33,9 | 98,3 | 16,0 | 16,0 | 100,0 | 484,2 | 476,1 | 98,3 |
| Natriumbisulfit | 0,2 | 34,5 | 35,1 | 101,7 | 16,0 | 16,0 | 100,0 | 484,2 | 483,5 | 99,9 |
| Kaliumbisulfit | 0,2 | 34,5 | 34,2 | 99,1 | 16,0 | 16,1 | 100,6 | 484,2 | 488,3 | 100,9 |

1. Name des Konservierungsmittels.
2. Menge des Konservierungsmittels in g/l RTN.
3. Festgestellte Menge der RNS in der Kontrollzucht in mg/1 g Trockenmasse.
4. Menge der RNS in der Zucht mit Zusatz von Konservierungsmitteln:
in mg/1 g Trockenmasse.
5. Menge der RNS in der Zucht mit Zusatz von Konservierungsmitteln:
in % zur Kontrollzucht.
6. Festgestellte Menge der DNS in der Kontrollzucht im mg/1 g Trockenmasse.
7. Festgestellte Menge DNS in der Zucht mit Zusatz von Konservierungsmitteln:
in mg/1 g Trockenmasse.
8. Festgestellte Menge DNS in der Zucht mit Zusatz von Konservierungsmitteln:
in % zur Kontrollzucht.
9. Festgestellte Eiweißmenge in der Kontrollzucht in mg/1 g Trockenmasse.
10. Eiweißmenge in der Zucht mit Zusatz von Konservierungsmitteln:
in mg/1 g Trockenmasse.
11. Eiweißmenge in der Zucht mit Zusatz von Konservierungsmitteln:
in % zur Kontrollzucht.

Auch zwischen den Sulfiten und Hydrogensulfiten trat in der Auswirkung kein sichtbarer Unterschied auf.

Tabelle 2

Einfluß der Benzoesäure, Salicylsäure und deren Natriumsalze sowie der o-Chlorbenzoesäure auf die Biosynthese der Nucleinsäuren und den Eiweißgehalt der Fibroblasten von Mäuseembryonen in Schichtzucht. Bezeichnungen wie in Tabelle 1

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|--------------------|-----|------|------|-------|------|------|------|-------|-------|-------|
| Benzoessäure | 0,2 | 33,3 | 33,2 | 99,7 | 14,6 | 14,4 | 98,6 | 468,3 | 469,0 | 100,2 |
| Natriumbenzoat | 0,2 | 32,1 | 32,2 | 100,3 | 14,1 | 14,0 | 99,3 | 454,1 | 456,3 | 100,5 |
| Salicylsäure | 0,2 | 34,8 | 34,1 | 98,0 | 12,7 | 12,1 | 95,3 | 472,8 | 470,8 | 99,6 |
| Natriumsalicylat | 0,2 | 37,0 | 36,8 | 99,5 | 14,6 | 14,1 | 96,6 | 483,1 | 484,0 | 100,2 |
| o-Chlorbenzoesäure | 0,2 | 36,4 | 35,9 | 98,6 | 13,5 | 13,0 | 96,3 | 480,5 | 480,2 | 99,9 |

Die Verbindung des Natriumions mit der Benzoesäure und Salicylsäure (Tabelle 2), des Kaliumions mit der Sorbinsäure und des Calciumions mit der Ameisensäure hatte keinen Einfluß auf das Verhalten dieser Säuren.

Wesentliche Unterschiede im Vergleich zu der Kontrollzucht ergaben sich dagegen bei der p-Hydroxybenzoesäure (PHBS), deren Methyl-, Aethyl- und Propyl-Ester, den Natriumsalzen dieser Ester und der p-Chlorbenzoesäure (Tabelle 5).

Es zeigt sich, daß nur diejenigen Konservierungsmittel die Biosynthese der Nucleinsäuren in der Tierzelle beeinflussen, die den Bau der p-Hydroxybenzoesäure haben. Bei den Methyl-, Aethyl- und Propyl-Estern dieser Säure wächst die Wirkung auf die Biosynthese von RNS und DNS mit der Länge der Alkylkette

Tabelle 3

Einfluß der Sorbinsäure und ihres Kaliumsalzes sowie der Ameisensäure und ihres Kalziumsalzes auf die Biosynthese der Nucleinsäuren und den Eiweißgehalt der Fibroblasten von Mäuseembryonen in Schichtzucht. Bezeichnungen wie in Tabelle 1

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|--|-----|------|------|-------|------|------|-------|-------|-------|-------|
| Sorbinsäure | 0,2 | 32,1 | 32,0 | 99,7 | 12,9 | 12,8 | 99,2 | 472,3 | 473,0 | 100,2 |
| Kaliumsorbat | 0,2 | 34,4 | 34,5 | 100,3 | 13,1 | 13,3 | 101,5 | 481,2 | 486,3 | 101,1 |
| Ameisensäure | 0,2 | 35,2 | 35,0 | 99,4 | 14,8 | 14,0 | 94,6 | 485,5 | 483,2 | 99,5 |
| Ameisensaures Calcium, ber. auf Ameisensäure | 0,2 | 35,2 | 35,3 | 100,3 | 14,8 | 14,1 | 95,3 | 485,5 | 485,7 | 100,0 |

Tabelle 4

Einfluß der *m*-Hydroxybenzoesäure und der *m*-Chlorbenzoesäure auf die Biosynthese der Nucleinsäuren und den Eiweißgehalt der Fibroblasten von Mäuseembryonen in Schichtzucht. Bezeichnungen wie in der Tabelle 1

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|------------------------------|-----|------|------|-------|------|------|------|-------|-------|-------|
| <i>m</i> -Hydroxybenzoesäure | 0,2 | 31,6 | 32,0 | 101,3 | 12,6 | 12,5 | 99,2 | 465,3 | 466,1 | 100,2 |
| <i>m</i> -Chlorbenzoesäure | 0,2 | 34,8 | 34,1 | 98,0 | 14,3 | 14,1 | 98,6 | 483,2 | 489,3 | 101,3 |

in der Estergruppe. Bemerkenswert ist der Umstand, daß der Methylester, sonst als der am meisten toxisch wirkende bekannt, den kleinsten Einfluß auf die Biosynthese der Nucleinsäuren aufweist.

Durch die Einführung des Natriumions in die Hydroxylgruppe des Methyl-, Aethyl- und Propylesters der PHBS wird die Biosynthese der Nucleinsäuren der Tierzelle nicht erkennbar beeinflusst. Die Einführung des Chloratoms in die Benzoesäure zeigt nur Wirkung in *para*-Stellung. *Ortho*- und *meta*-Verbindungen haben keinen Einfluß. Es ist also hier eine Abhängigkeit zwischen der Struktur der Verbindung und ihrer pharmakologischen Auswirkung zu erkennen. Ähnliche Ergebnisse erhielt man auch für die Hydroxylderivate der Benzoesäure, also für die *o*-, *m*- und *p*-Hydroxybenzoesäuren.

Was den Eiweißgehalt in der Tierzelle betrifft, so möchten wir hervorheben, daß sich während der Dauer des Experiments und unter den gegebenen Bedingungen kein deutlicher Einfluß der *p*-Hydroxybenzoesäure und deren Derivate kein deutlicher Einfluß feststellen ließ.

Tabelle 5

Einfluß der *p*-Hydroxybenzoesäure und ihrer Derivate auf die Biosynthese der Nucleinsäuren und den Eiweißgehalt der Fibroblasten von Mäuseembryonen in Schichtzucht. Bezeichnungen wie in der Tabelle 1

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|---|-----|------|------|------|------|------|------|-------|-------|------|
| <i>p</i> -Hydroxybenzoesäure (PHBS) | 0,2 | 32,1 | 10,0 | 31,2 | 13,7 | 10,9 | 79,6 | 480,3 | 453,3 | 95,4 |
| Methylester der PHBS | 0,2 | 33,5 | 14,9 | 44,5 | 14,1 | 12,0 | 85,1 | 487,2 | 470,2 | 96,5 |
| Natriumsalz des Methylesters der PHBS, ber. auf Ester | 0,2 | 38,1 | 16,8 | 44,1 | 16,3 | 14,1 | 86,5 | 498,1 | 481,3 | 96,6 |
| Aethylester der PHBS | 0,2 | 34,0 | 10,7 | 31,5 | 14,8 | 10,0 | 67,6 | 489,9 | 441,1 | 90,0 |
| Natriumsalz des Aethylesters der PHBS, ber. auf Ester | 0,2 | 31,3 | 9,6 | 30,1 | 12,9 | 8,8 | 68,2 | 471,1 | 422,3 | 89,6 |
| Propylester der PHBS | 0,2 | 32,2 | 8,1 | 25,2 | 13,9 | 7,5 | 54,0 | 479,3 | 421,0 | 87,8 |
| Natriumsalz des Propylesters der PHBS, ber. auf Ester | 0,2 | 33,4 | 8,2 | 24,6 | 14,2 | 8,0 | 56,3 | 488,6 | 431,1 | 88,2 |
| <i>p</i> -Chlorbenzoesäure | 0,2 | 33,3 | 8,8 | 26,4 | 14,1 | 8,7 | 61,7 | 489,0 | 439,3 | 89,8 |

Bei all diesen Versuchen sollte man berücksichtigen, daß die Konzentration der Konservierungsmittel, bei der man die Verminderung der Biosynthese von Nucleinsäuren beobachten konnte, fünfmal geringer war als die in Polen für Lebensmittel zugelassene. Sie betrug stets 0,2 g Konservierungsmittel pro Liter Zuchtflüssigkeit.

Wir untersuchten auch den Einfluß des Aethylesters der *p*-Hydroxybenzoesäure auf die Eingliederungsdynamik des Phosphorisotopen ^{32}P in die Nucleinsäuren der Tierzelle. Zu diesem Zweck versetzten wir sowohl die Kontroll-, als auch die Konservierungsmittel enthaltende Zuchtflüssigkeit mit Dinatriumhydrogenphosphat, welches so viel ^{32}P enthielt, daß die Radioaktivität 20 μCi pro 500 ml Zuchtflüssigkeit betrug. Zur Isolierung und Trennung der Nucleinsäuren bedienten wir uns der Methode von Rees (7). Nach der ursprünglichen Methode isoliert man die RNS aus dem biologischen Material durch Reinigung mit 10%iger und 5%iger Trichloressigsäure unterhalb $+4^\circ\text{C}$, Zentrifugieren, Auslösen des Fettes mit Aceton, dann mit Chloroform + Aceton im Volumenverhältnis 2 + 1, nochmaliges Zentrifugieren und Hydrolyse mit 1 *n*-Natriumhydroxid bei 37°C während 18 Stunden. Dann wird die Mischung der DNS und des Eiweißes mit konzentrierter Schwefelsäure und 5%iger Trichloressigsäure aus-

Tabelle 6

Einfluß des Aethylesters der PHBS auf die Schnelligkeit der Eingliederung von ^{32}P in die Fibroblastenzellen der Mäuseembryonen in der Schichtzucht

| Bezeichnung der Probe | Menge der RTN in ml | Gesamtaktivität des RTN in Imp./Min. | Menge der kompakten Zellenmasse (Versuchsausbeute) in g | Eingesetzte Menge der kompakten Zellenmasse zur Isolierung der Nucleinsäuren in g | Eingesetzte Menge der kompakten Zellenmasse zur Gewinnung des Hydrolisates in g | Gesamtaktivität der gewonnenen kompakten Zellenmasse in Imp./Min. | Gesamtaktivität der gewonnenen kompakten Zellenmasse ber. pro 1 g in Imp./Min. | Gesamtaktivität der kompakten Zellenmasse pro 1 g in % der eingesetzten Aktivität |
|--|---------------------|--------------------------------------|---|---|---|---|--|---|
| Kontrollzucht | 250 | 18 075 000 | 0,3011 | 0,2683 | 0,0328 | 621 936 | 2 065 546 | 11,4 |
| Versuchszucht mit Zusatz des Aethylesters der PHBS | 250 | 18 075 000 | 0,1072 | 0,0641 | 0,0431 | 128 715 | 1 200 800 | 6,6 |

Tabelle 7

Einfluß des Aethylesters der PHBS auf die Schnelligkeit der Eingliederung von ^{32}P an die RNA aus Fibroblastenzellen der Mäuseembryonen in der Schichtzucht

| Bezeichnung der Probe | Menge der RNA aus der kompakten Zellenmenge (Versuchsausbeute) in mg | Menge der RNA umgerechnet auf 1 g kompakter Zellenmasse in mg | Gesamtaktivität der gewonnenen RNA in Imp./Min. | Menge des an die RNA eingegliederten ^{32}P aus 1 g Zellen in % | Spezifische Aktivität der RNS umgerechnet pro 1 mg in Imp./Min. |
|--|--|---|---|--|---|
| Kontrollzucht | 1,569 | 5,21 | 130 049 | 20,9 | 82 837 |
| Versuchszucht mit Zusatz des Aethylesters der PHBA | 0,296 | 2,76 | 15 051 | 11,7 | 50 848 |

gefällt. Im Supernatant bleibt die RNS gelöst. Wir modifizierten das Originalverfahren von Rees, indem wir die DNS vom Eiweiß durch 15minütige Hydrolyse mit 5%iger Trichloressigsäure bei 90 ° C trennten. Unter diesen Bedingungen wird die DNS hydrolysiert und gelöst, während das Eiweiß im Niederschlag bleibt. Diese Modifikation ermöglichte eine gleichmäßige Isolierung von DNS und RNS aus geringen Mengen biologischen Materials. Die Radioaktivität der so erhaltenen Extrakte wurde nach dem Infrarot-Trocknen mit einem Geiger-Müller-Zähler bestimmt. Die Ergebnisse wurden auf 1 g kompakte Zellmasse umgerechnet und in Imp./Min. sowie Prozenten ausgedrückt.

Die Ueberprüfung des Einbaues von ^{32}P in die ganzen Zellen (Tabelle 6) ergab in der Kontrollzucht eine Aktivität von $2 \cdot 10^6$ Imp./Min. oder 11,4 %, in der Zucht mit Esterzusatz $1,2 \cdot 10^6$ Imp./Min. oder 6,6 %.

Auch bei der Eingliederung von ^{32}P in die RNS der Tierzellen (Tabelle 7) ergaben sich Unterschiede: Aus 1 g kompakter Zellmasse wurden, bezogen auf das in ganze Zellen der Kontrollzucht eingegliederte Markierelement, 20,9 % und bei der Zucht mit Esterzusatz 11,7 % in die RNA eingegliedert. Die spezifische Aktivität für 1 mg der RNA in der Kontrollzucht betrug 83 000 Imp./Min., in der Zucht mit Esterzusatz ca. 51 000 Imp./Min.

Die Prüfung der Eingliederung von ^{32}P in die DNS der Tierzelle (Tabelle 8) ergab eine spezifische Aktivität der DNS (auf 1 mg umgerechnet) bei der Kontrollzucht von ca. 65 000 Imp./Min., bei der Zucht mit Esterzusatz von ca. 24 000 Imp./Min.

Tabelle 8

Einfluß des Aethylesters der PHBS auf die Schnelligkeit der Eingliederung von ^{32}P in die DNA aus Fibroblastenzellen der Mäuseembryonen in der Schichtzucht

| Bezeichnung der Probe | Menge der DNS aus der kompakten Zellenmenge (Versuchsausbeute) in mg | Gesamtaktivität der gewonnenen DNS in Imp./Min. | Spezifische Aktivität der DNS umgerechnet pro 1 mg in Imp./Min. |
|--|--|---|---|
| Kontrollzucht | 0,578 | 37 320 | 64 568 |
| Versuchszucht mit Zusatz des Aethylesters der PHBS | 0,274 | 6 516 | 23 781 |

Die Forschungen mit Isotopen erwiesen also eine bedeutende Hemmung der Eingliederung von ^{32}P durch den Aethylester der PHBS, und zwar sowohl in die ganzen Zellen, als auch in die RNS und DNS der Tierzellen. Damit werden die im ersten Teil dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse bestätigt.

Die Resultate unserer Untersuchungen beweisen, daß die p-Hydroxybenzoesäure und ihre Derivate sich gegenüber der Tierzelle nicht neutral verhalten;

sie vermindern die Synthesefähigkeit der Ribonucleinsäure und der Desoxyribose-nucleinsäure. Da auch eine lokalanästhetische Wirkung der Ester beobachtet wurde (8, 9), müssen Bedenken in bezug auf den Einsatz dieser Konservierungsmittel gehegt werden.

Zusammenfassung

Die Verfasser untersuchten den Einfluß von chemischen Konservierungsmitteln auf die Biosynthese der Nucleinsäuren und den Eiweißgehalt von Tierzellen. Folgende Verbindungen übten unter den Versuchsbedingungen keinen Einfluß aus: Nitrate, Nitrite, Sulfite, Benzoesäure, Salicylsäure, *o*-Chlorbenzoesäure, Sorbinsäure, Ameisensäure und *m*-Chlorbenzoesäure. Dagegen schränkten die *p*-Hydroxybenzoesäure, ihre Methyl-, Aethyl- und Propylester, die Natriumsalze dieser Ester und *p*-Chlorbenzoesäure die Synthesefähigkeit von RNS und DNS in der Tierzelle deutlich ein. In keiner der geprüften Verbindungen konnte ein wesentlicher Einfluß auf den Eiweißgehalt der Tierzelle gefunden werden.

Die Untersuchung der Eingliederungsdynamik von ^{32}P , den ganzen Zellen als Dinatriumhydrogenphosphat einverleibt, in RNS und DNS erwies eine deutliche Hemmung durch 0,2 g Aethylester der *p*-Hydroxybenzoesäure pro Liter Zuchtflüssigkeit. Damit wurden die Ergebnisse der Versuche ohne ^{32}P bestätigt.

Die lokalanästhetischen Eigenschaften und die hier festgestellte Hemmung der Biosynthese von RNS und DNS durch die PHBS-Ester wecken beim Hygieniker Vorbehalte gegenüber dieser Gruppe von Konservierungsmitteln.

Résumé

Les auteurs ont étudié les effets d'agents conservateurs chimiques sur la biosynthèse des acides nucléiques et sur la teneur en protéines de cellules animales.

Il n'a été observé aucun effet pour les nitrates, nitrites, sulfites, ni pour les acides benzoïque, salicylique- *o*- et *m*-chlorbenzoïque, sorbique et formique. Par contre, l'acide *p*-hydroxybenzoïque, ses esters méthyliques, éthyliques et propyliques, les sels de sodium de ces esters et l'acide *p*-chlorbenzoïque limitent nettement le pouvoir des cellules animales de synthétiser des molécules d'ARN et d'ADN. Il n'a été observé pour aucune des substances expérimentées d'influence marquée sur la teneur en protéines des cellules.

Les cellules animales ont été alimentées en ^{32}P , sous forme de Na_2HPO_4 , et l'incorporation du phosphore dans les molécules d'ARN et d'ADN a été étudiée. On a pu ainsi constater une forte inhibition de l'incorporation du phosphore par addition de 0,2 g *p*-hydroxybenzoate d'éthyle par litre de milieu de culture. Ainsi, des résultats obtenus sans l'emploi de ^{32}P se trouvent confirmés.

Les propriétés anesthésiantes des esters de l'acide *p*-hydroxybenzoïque et ses effets d'inhibition dans la biosynthèse des molécules d'ARN et d'ADN motivent les réserves des hygiénistes à l'égard de ce groupe d'agents conservateurs.

Summary

The authors have investigated the influence of chemical preservatives on the biosynthesis of nucleic acids and on the protein content of animal cells in a tissue culture. The following compounds were found to exert no such influence: nitrate, nitrite, sulfite,

benzoic, salicylic, *o*-chlorobenzoic, sorbic, formic and *m*-chlorobenzoic acids. On the other hand the following compounds reduce the biosynthesis of RNA and DNA in animal cells significantly: *p*-hydroxybenzoic acid, its methyl, ethyl, and propyl esters, sodium salts of these esters, and *p*-chlorobenzoic acid. All compounds tested do not significantly influence the protein content of animal cells under the stated experimental conditions.

The incorporation of ^{32}P , fed as Na_2HPO_4 to whole cells, into RNA and DNA was studied. Ethyl *p*-hydroxybenzoate, added to the culture medium (0,2 g/l), clearly interfered with the incorporation of ^{32}P . The observations with isotopes confirm the results obtained from a culture without added ^{32}P .

The esters of *p*-hydroxybenzoic acid raise reservations with hygienists because of their local anesthetic properties and of their interfering influence on the biosynthesis of RNA and DNA, as described in this paper.

Literatur

1. *Parker R. C.*: Methods of Tissue Culture. Paul B. Hoeber, New York (1950).
2. *Morzycki J.*: Postepy Hig. Med. Dośw. **9**, 87 (1955).
3. *Schneider W. C.*: J. Biol. Chem. **161**, 293 (1945).
4. *Ramachandran L. K.* und *Fraenkel-Conrat H.*: Arch. Bioch. Bioph. **74**, 224 (1958).
5. *Ishihara H.*: Analyt. Biochem. **3**, 186 (1962).
6. *Burton K.*: Bioch. J. **62**, 315 (1956).
7. *Rees K. R.*, *Rowland C. F.* und *Varcoe J. S.*: Brit. J. Cancer **19**, 72 (1965).
8. Joint *FAO/WHO* Expert Committee on Food Additives 1966, p. 23, Toxicological Evaluation of Some Antimicrobials, Antioxidants, Emulsifiers, Stabilizers, Fluor Treatment Agents, Acids and Bases.
9. *Bubnoff M.*, *Schnell D.* und *Vogt-Moykoff J.*: Arzneimitt.-Forsch. **7**, 340 (1957).

Séparation, identification et dosage de la coumarine dans les arômes à base d'huiles essentielles d'agrumes

E. Martin et *Ch. Berner*
Laboratoire Cantonal de Chimie, Genève

1. Introduction

La coumarine est présente dans de nombreux végétaux. La fève de Tonka (*Diptérix odorata*) en contient jusqu'à 4 %. Elle est aussi préparée par synthèse. La coumarine est utilisée dans l'industrie des arômes en tant que stabilisateur, renforçateur et fixateur.

Sa toxicité aux concentrations dans les aliments est discutée. Ainsi aux Etats-Unis, la coumarine n'est pas admise. En revanche dans d'autres pays elle est