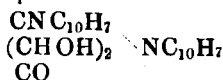


erhalten, die bei 330° noch nicht schmolzen, und deren Analyse nahezu auf die Formel $C_{24}H_{18}N_2O_3$ stimmt.

Procente: C 75.39, H 4.71, N 7.33.

Gef. » » 76.01, » 4.65, » 7.26.

Vielleicht hat der Körper die Constitution



513. O. Emmerling: Beitrag zur Kenntniss der Eiweissfäulniss.

[Aus dem I. Berliner Universitätslaboratorium.]

(Vorgetragen vom Verfasser.)

Ueber Eiweissfäulniss liegen bereits zahlreiche Arbeiten vor, welche sich theils auf chemischem, theils auf physiologischem Gebiete bewegen. Da die angewandten Materialien sowohl wie die Versuchsbedingungen verschieden waren, so kann es nicht Wunder nehmen, dass die Resultate ebenfalls von einander abweichen; in den wenigsten Fällen ist mit einheitlichen Stoffen gearbeitet worden; die nähere Bestimmung der Fäulnisserreger ist früher fast stets unterlassen worden. Nencki und Brieger waren die Ersten, welche hierin eine dankenswerthe andere Richtung einschlugen, indem sie sich bei ihren zahlreichen Arbeiten über Fäulnissproducte einheitlicher Organismen bedienten, wodurch Nebenwirkungen und Zufälligkeiten ausgeschlossen wurden.

Die im Nachstehenden angeführten Versuche erstrecken sich auf zwei Eiweisskörper, welche allerdings, vom chemischen Standpunkte betrachtet, sicher nicht einheitlich sind, deren Trennung in mehrere Bestandtheile indessen nicht oder sehr unvollkommen gelungen ist. Als Fäulnisserreger wurden zwei Mikroorganismen verwendet, welche in Reincultur vorlagen. Es sei gleich hier bemerkt, dass das Eindringen fremder Organismen während der Versuche auf das Sorgfältigste vermieden, und nach Beendigung derselben stets die Abwesenheit fremder Eindringlinge bacteriologisch festgestellt wurde. Bei den zahlreichen Einzelversuchen wurde nur ein einziges Mal eine Verunreinigung solcher Art bemerkt, und das gewonnene Material von der Weiterverarbeitung ausgeschlossen.

Die Fäulniss von Weizenkleber durch *Proteus vulgaris*.

Der Kleber wurde durch Auskneten von Weizenmehlteig in rohem Zustande gewonnen. Da sich nicht alle Stärke auf diese Weise entfernen lässt, wurde die zähe Masse mit einem Malzauszuge versetzt

und so alle Stärke verzuckert. Nach wiederholtem Waschen war von Letzterer nichts mehr bemerkbar. Es folgte mehrmaliges Waschen mit Alkohol und Aether, wodurch auch Fette entfernt wurden. Das so möglichst gereinigte Material kam in Kolben von 3 Liter Inhalt in Portionen von je 200 g mit 2 Liter Wasser, 50 g Calciumcarbonat, etwas Kaliumphosphat und Magnesiumsulfat in den Koch'schen Dampfsterilisator, worin es 3 Tage hintereinander je $\frac{1}{2}$ Stunde dem strömenden Dampfe ausgesetzt wurde. Darauf erfolgte Einsaat des Proteus, dessen Reincultur ich Herrn Dr. Günther vom Berliner hygienischen Institut verdanke.

Es kamen im Ganzen 600 g feuchten Klebers zur Verwendung; die Kolben blieben bei 37° im Brutschrank. Nach 4 Tagen machte sich ein säuerlich brotartiger Geruch bemerkbar, während gleichzeitig starke Gasentwicklung eintrat. Die Gase waren quantitativ nicht immer gleich zusammengesetzt, durchschnittlich bestanden sie aus 46 pCt. Kohlensäure, 38 pCt. Wasserstoff und 16 pCt. Stickstoff.

Vom 6. Tage an beruhigte sich die Flüssigkeit und entwickelte einen starken Fäulnisgeruch. Die Reaction wurde immer alkalischer, die zähe Masse des Klebers wurde bröcklich und verschwand allmählich ganz; auch war zu bemerken, dass ein Theil des Calciumcarbonats in Lösung gegangen war. Nach 14 Tagen resultirte endlich eine braune, übelriechende Flüssigkeit mit geringem Bodensatz.

Die stark alkalische Flüssigkeit wurde im Dampfstrom destillirt, das Destillat (A) auf flüchtige Basen und Phenole, der Rückstand (B) auf Säuren und nicht flüchtige Basen untersucht.

Das Destillat A.

Dasselbe war etwas getrübt, ohne feste Substanzen abzuscheiden. Nach dem Ansäuern mit Salzsäure wurde ihm durch Ausäthern Phenol entzogen. Dasselbe wurde durch Fälln mit Bromwasser und Umkrystallisiren des gelben flockigen Niederschlags aus Chloroform identificirt. Die so erhaltenen hellgelben Nadeln von Tribromphenolbrom schmolzen bei 118° .

0.2500 g gaben 0.4578 AgBr = 77.88 pCt. Br.

Berechnet für $C_6H_2Br_4O$ = 78.04 * *

Die aus 600 g Kleber gewonnene Menge Phenol betrug, abgesehen von unvermeidlichen Verlusten, 0.65 g.

Höhere Phenole konnten nicht nachgewiesen werden.

Aus der Menge der zur Neutralisation erforderlichen Salzsäure war auf nicht unbedeutende Quantitäten flüchtiger Basen zu schliessen. Die eingedampfte Lösung derselben hinterliess 17.5 g trockene salzsaure Salze, welchen durch wiederholtes Ausziehen mit absolutem Alkohol die organischen Basen entzogen wurden. Es ergaben sich so 15.5 g reines Chlorammonium und 1.05 g salzsaure organische

Basen, welche in absolutem Alkohol leicht löslich waren. Mit Natronlauge erwärmt, entwickelten sie starken Amingeruch; die Isonitrilreaction blieb aus. Mit Platinchlorid entstand in sehr concentrirter Lösung ein krystallinischer Niederschlag, welcher aus Alkohol umkrystallisirt wurde. Die orangefarbigten Krystalle bestanden aus dem Platindoppelsalze des Trimethylamins.

0.2131 g gaben 0.0791 g Platin = 37.11 pCt.

Berechnet für $[(CH_3)_3NHCl]_2PtCl_4$ = 37.2 %

Dimethylamin und andere flüchtige Basen konnten nicht aufgefunden werden.

Der Destillationsrückstand B.

In diesem Rückstand waren die entstandenen Säuren als Calciumsalze, ferner nicht flüchtige Basen. Da sich bei einem Vorversuch zeigte, dass Amylalkohol aus der braunen Lösung viel gefärbte Substanz, aber auch einen basischen Körper aufnahm, so wurde mit grösseren Mengen Amylalkohol ausgeschüttelt, und diesem durch salzsäurehaltiges Wasser die basische Substanz wieder entzogen; dieselbe hinterblieb als salzsaures Salz beim Verdampfen der wässrigen Lösung; Behandeln mit Thierkohle genügte, sie rein zu gewinnen. An der Luft zerfloss das Salz rasch; mit Platinchlorid entstand erst beim Verdampfen ein leicht lösliches Doppelsalz, wogegen Goldchlorid eine schwer lösliche, in gelben Nadeln krystallisirende Verbindung erzeugte, welche nicht ganz scharf bei 227° (uncorr.) schmolz; die Menge des Goldsalzes betrug 0.305 g.

0.0929 g gaben beim Glühen 0.0401 g Gold = 43.16 pCt.

Aus diesen Befunde, sowie aus verschiedenen dafür als charakteristisch angegebenen Reactionen und endlich aus dem Vergleich mit einem künstlichen Präparate ging hervor, dass hier Betaïn vorlag, dessen Goldsalz $C_5H_{12}NO_2AuCl_4$ 43.07 pCt. Gold enthält.

Brieger¹⁾, welcher Betaïn aus zersetzten Miesmuscheln gewann, giebt den Schmelzpunkt des Goldsalzes zu 209° an. Dagegen fand E. Fischer²⁾ $230-235^{\circ}$, was meinem Befunde weit näher liegt.

Es ist nicht unmöglich, dass in einer früheren Phase der Kleberfäulniss die Menge des Betaïns grösser ist, dass es sich aber im weiteren Verlaufe wieder zersetzt und zur Quelle für das Trimethylamin wird.

Beim Destilliren der mit Amylalkohol erschöpften und dann angesäuerten Flüssigkeit erhielt man eine reichliche Menge flüchtiger, stark nach Käse riechender Säuren, welche in Form ihrer Calciumsalze 36.5 g wogen. Die Säuren wurden durch fractionirte Fällung ihrer Silbersalze getrennt. Nach vielfachem Wiederholen dieser

¹⁾ Brieger, Ueber Ptomaine.

²⁾ B. 1894, I, 167.

Manipulation und zahlreichen Krystallisationen gelang schliesslich die Trennung in mehrere wohlcharakterisirte Säuren. An der starken und lange andauernden Reduction der Silbersalze beim Erwärmen gab sich die Anwesenheit nicht unbedeutender Mengen Ameisensäure kund.

Ferner wurde Essigsäure isolirt.

0.2050 g gaben 0.1321 g Ag = 64.4 pCt.

Berechnet für $C_2H_3O_2Ag$ = 64.6 »

Das Silbersalz der in grösster Menge entstandenen Säure enthielt 55.2 pCt. Silber.

0.3122 g gaben 0.1726 g Ag = 55.2 pCt.

Berechnet für $C_4H_7O_2Ag$ = 55.3 »

Es lag hier also Buttersäure vor und zwar, aus der Ausscheidung reichlicher Krystalle beim Erwärmen einer gesättigten Lösung des Calciumsalzes zu schliessen, normale Buttersäure. Die aus dem Silbersalze abgeschiedene Säure siedete bei 162–163°.

Die Menge der gewonnenen Buttersäure betrug 18 g.

Die zwischen Essigsäure und Buttersäure liegende Propionsäure war nicht entstanden; aus den Analysen allerdings sehr geringer Mengen anderer Fractionen, welche 49.2 pCt. Silber aufwiesen, muss geschlossen werden, dass etwas höhere Fettsäuren vorhanden waren.

Da bei der Fäulniss eiweisshaltiger Körper so häufig giftige Ptomaine entstehen, so wurde ein besonderer Versuch nach dieser Richtung hin angestellt. Die Methode war die von Brieger (l. c.) angegebene. In ganz geringer Menge erhielt ich einen krystallinischen Körper, welcher keine charakteristischen Reactionen gab und, einem Meerschweinchen subcutan eingespritzt, ohne jede sichtbare Wirkung war. Es ist dies um so auffallender, als nach den Angaben Hauser's¹⁾, des Entdeckers der Proteusarten, mehrere dieser Mikroben bei ihrem Wachsthum auf thierischem Eiweiss giftige Stoffwechselproducte hervorbringen sollen.

Fäulniss von Eialbumin durch *Staphylococcus pyogenes aureus*.

Ueber Eiweisszersetzung durch obigen Eitererreger liegen Arbeiten von Buchner, Leber, C. Fränkel, Brieger, Lübbert u. A. vor. Die Angaben widersprechen sich zum Theil, namentlich was die Bildung giftiger Producte betrifft. Brieger konnte kein Toxin isoliren; Lübbert²⁾ fand, dass Eiweiss überhaupt schwer von dem Mikroben angegriffen wird, dass sich dann wohl Peptone, aber keine Amidosäuren bilden. Dass die Wirkung der Eiterbakterien nicht auf Erzeugung giftiger Stoffwechselproducte zurückzuführen sei, hat H. Buchner wahrscheinlich gemacht, welcher sie einem »positiv chemo-

¹⁾ Ueber die Fäulnissbakterien und deren Beziehung zur Septicaemie.

²⁾ Biologische Spaltpilzuntersuchungen.

taktischen« Einfluss, d. h. einer Ansammlung der Leukocyten aus der Blutbahn zuschreibt.

Ich fand, dass Eieralbumin, welches unter den nöthigen Cautelen steril in Kolben gefüllt war, bei 37° vom Staphylococcus rasch angegriffen wird. Die Kolben enthielten ausserdem Nährsalze und kohlen-sauren Kalk. Die Luft war vor Beginn des Versuches vollständig durch Wasserstoff verdrängt. Nach 4 Tagen entwickelten sich wenig, aber sehr übelriechende Gase; nach 14 Tagen war eine dünne Flüssigkeit entstanden, welche beim Erwärmen starke Jodolreaction gab.

Bezüglich der weiteren Verarbeitung kann ich auf das bei Proteus Gesagte verweisen, sie war im Ganzen dieselbe. Ausser Phenol wurde hier im wässrigen Destillat noch Indol und Scatol gefunden, welche durch heisses Wasser getrennt und an ihrem Schmelzpunkte, beziehungsweise ihrer Pikrinsäureverbindung, erkannt wurden.

Von flüchtigen Säuren, welche diesmal durch Ausäthern des sauren Destillats gewonnen und durch Fractioniren getrennt wurden, waren vorhanden:

Ameisensäure:	starke Reaction	} aus 860 g Eiweiss.
Essigsäure:	2.5 g	
Propionsäure:	0.6 »	
Buttersäure:	10.8 »	
Höhere Fettsäuren:	0.5 »	

Die Säuren wurden als Silbersalze analysirt. Die flüchtigen Basen bestanden, neben einer Spur einer an der Isonitrilreaction erkennbaren primären Base, aus 3.3 g Trimethylamin und sehr viel Ammoniak.

Durch Ausschütteln mit Amylalkohol konnte weder Betaïn, noch eine andere Base gewonnen werden.

Die nicht flüchtigen Säuren bestanden aus Oxalsäure und Bernsteinsäure. Von ersterer waren reichliche Mengen (ca. 2 g) vorhanden, Bernsteinsäure nur 0.3 g. Ich habe gefunden, dass auch in peptonhaltigen Bouillonculturen des Staphylococcus aureus Oxalsäure in grösserer Menge entsteht.

Da ich den Staphylococcus in reichlicher Menge in Händen hatte, so habe ich mit ihm noch einige Versuche unternommen, um festzustellen, ob dieser Pilz Enzyme enthält, welche gewisse Polysaccharide spalten können. Es war eine Kultur von ca. 1 Liter Bouillon vorhanden, worin ein reichlicher Schlamm des Mikroben entstanden war. Derselbe wurde auf einem Kitasato'schen Filter gesammelt, gewaschen und nach dem Abschaben gewogen. Mittels einer Aufschwemmung in Wasser wurde der Pilz annähernd in gleicher Menge auf verschiedene Polysaccharidlösungen vertheilt und zwar so, dass auf 25 ccm jeder solchen 2 procentigen Lösung 0.05 g des Pilzes kamen. Nach Zusatz von

Toluol gelangten die in Fläschchen befindlichen Flüssigkeiten 24 Stunden in den Brutschrank bei 35°. Weder Rohrzucker, noch Stärke, Glycogen, Maltose und Milchzucker waren gespalten worden. Bei Stärke war bereits Fermi¹⁾ zu demselben Resultat gekommen.

514. O. Emmerling: Ueber einen neuen aus Glycerin Buttersäure erzeugenden Bacillus.

[Aus dem I. Berliner Universitäts-Laboratorium.]

(Vorgetragen in der Sitzung vom Verfasser.)

Bei der Wiederholung der so interessanten Versuche von Albert Fitz²⁾ über Spaltpilzgährungen wollte es mir nie gelingen, des Mikroorganismus habhaft zu werden, welcher aus Glycerin Butylalkohol erzeugt, welchen Fitz aus Kuhexcrementen gezüchtet und *Bacillus butylicus* genannt hat. Spätere Autoren, welche zwischen einer grösseren Anzahl unter sich und dem Fitz'schen ähnlicher Bakterien zu unterscheiden hatten, haben die Existenz des letzteren als Individuum geleugnet; doch wird er neuerdings wieder in den Classificationen der Buttersäurebakterien aufgeführt, und speciell Beijerinck³⁾ identificirt ihn mit dem von ihm auf Getreide gefundenen *Granulobacter saccharobutyricum*.

Fitz gewann, wie erwähnt, seinen *Bacillus* aus Kuhexcrementen, welche in verdünnter Glycerinlösung in kurzer Zeit stürmische Gährung hervorriefen.

Die Fütterung der Kühe ist ohne Zweifel auf das Vorhandensein gewisser Mikroorganismen in deren Dünger von Einfluss, und dies mag der Grund sein, dass der von Fitz bei Elsässer Kühen gefundene erwähnte Gährungserreger bei anderen nicht vorkommt. Im Kuhdünger aus Berliner Ställen, aus Thüringen, dem Harz und Oldenburg konnte ich die charakteristischen Formen des Fitz'schen *Bacillus* nicht finden. Bei diesen Versuchen stiess ich jedoch häufig auf zahlreiche Bakterien, aus denen ich durch Plattenculturen ein Individuum isoliren und rein züchten konnte, welches von den ihm sonst nahestehenden Buttersäure- und Heu-Bakterien deutlich unterschieden werden kann.

Diese Bacillen wurden durch Eintragen von Kuhexcrementen in Wasser mit 5 Procent Glycerin und stickstoffhaltigen und mineralischen Nährstoffen, genau nach der Angabe von Fitz, und Stehenlassen bei 37° gewonnen. Es trat zwar Gährung ein, doch war sie

¹⁾ Centralbl. Bact. 12, 714.

²⁾ Diese Berichte 8 und folgende.

³⁾ Centralbl. Bact. 15, 171.