

105. O. Emmerling und O. Reiser: Zur Kenntniss eiweiss-spaltender Bakterien.

[Aus dem I. chemischen Universitätslaboratorium zu Berlin.]

(Eingegangen am 10. Februar 1902.)

Neben zahlreichen anderen Mikroben findet man in Faulflüssigkeiten auch ausserordentlich häufig eine Bakterienart, welche sich durch rasche Verflüssigung der Gelatine und das Vermögen, ihrer Umgebung schön grüne Fluorescenz zu ertheilen, auszeichnet. Sie hat daher von ihrem Entdecker Flügge den Namen »bacillus fluorescens liquefaciens« erhalten. Wo Eiweisssubstanzen der Zersetzung anheimfallen, besonders auch in Flusswässern, ist dieser Mikrobe anzutreffen.

Die Rolle, welche er bei dem Abbau der Eiweisskörper spielt, ob er zu den eigentlichen Fäulnisbakterien gehört oder nicht, wie weit er die Eiweisssubstanzen abbaut; d. h. ob er ein mehr dem Pepsin oder mehr dem Trypsin verwandtes Enzym besitzt, dies sind Fragen, welche nicht oder sehr unvollkommen studirt sind. Die Annahme, Trypsin wirke nur in alkalischem, Pepsin in saurem Medium, ist nicht mehr haltbar; nur die Zersetzungsproducte der genuinen Eiweisskörper können hier Aufschluss geben.

Wir haben uns daher zur näheren Untersuchung der genannten Bacillen entschlossen und geben nachstehend die Resultate derselben; eine ausführliche Darstellung wird durch den Einen von uns später erfolgen.

Zunächst ist die Einwirkung der lebenden Bakterien auf Leim (beste Handelsgelatine) von uns studirt worden. Derselbe wird in 10-procentiger Lösung an der Oberfläche zunächst rasch verflüssigt, in tieferen Schichten tritt langsamere Wirkung in Folge des Sauerstoffmangels ein, und man muss oft umschütteln. Nach mehreren Monaten war bei 37° eine braune, grün fluorescirende Lösung von starkem Ammoniakgeruch entstanden. Gase traten während dieser Zeit nicht auf. Nach der Brieger'schen¹⁾ Methode, d. h. durch systematisches Ausfällen der Mono- und Di-Amine mittels Bleiacetat, Quecksilber-, Platin- und Gold-Chlorid u. s. w. wurde die Lösung weiter behandelt. Zunächst ergab sich die Abwesenheit von Phenolen, Indol, Skatol, Schwefelwasserstoff, den charakteristischen Fäulnisproducten. Aus der Menge des entstandenen Ammoniaks konnte constatirt werden, dass mindestens 25 pCt. des im Leim enthaltenen Stickstoffs in Ammoniak übergeführt worden waren; bedenkt man jedoch, dass die nur mit Watte verschlossenen Gefässe

¹⁾ Ueber Ptomaine, Berlin 1885/86.

monatelang bei 37° gestanden hatten, so ist kein Zweifel, dass noch erhebliche Mengen Ammoniak verloren gegangen waren.

Trotz der langen Einwirkung waren nicht unbeträchtliche Mengen Leim nur bis zu den Peptonen gespalten. Von Aminen wurden nachgewiesen Methylamin, Trimethylamin, ausserdem noch Cholin und Betaïn, welches der Eine¹⁾ von uns auch bei der Zersetzung anderer Eiweisskörper durch Fäulnisbakterien gefunden hat. Diamine entstehen nicht.

Man ersieht aus diesen Befunden, dass der bacillus fluorescens weder ein Fäulnisserreger noch Erzeuger giftiger Ptomaine ist, dass vielmehr seine Thätigkeit hauptsächlich darin besteht, die Eiweisssubstanzen zu peptonisiren und dann langsam weiter zu einfachen Aminen resp. Ammoniak abzubauen — eine wichtige Rolle bei den natürlichen Vorgängen der Bereitung pflanzlicher Stickstoffnahrung.

Für die Untersuchung der Bakterien auf die Art ihres proteolytischen Enzyms wurde nicht Leim, sondern Blutfibrin verwendet, da Ersterer, wie bekannt, durch Enzyme nur sehr unvollständig gespalten wird, für vorliegende Frage also nicht geeignet erschien.

Längere Zeit nahm die Beschaffung des nöthigen Bakterienmaterials in Anspruch. Im Ganzen wurden auf etwa 1 kg Fibrin 30 g Bakterien (auf Trockensubstanz berechnet) verwendet, welche nach und nach, frisch gewonnen, dem in Wasser vertheilten und mit Toluol versetzten Fibrin zugesetzt wurden. Bei 37° trat ziemlich langsam Lösung ein, aber selbst nach längerer Zeit waren noch bedeutende Mengen Peptone vorhanden. Jedes Eindringen fremder Keime, sowie das Verdunsten des Toluols war vermieden worden.

In der mit Schwefelsäure angesäuerten, von ausgeschiedenem Tyrosin abfiltrirten Lösung erzeugte Phosphorwolframsäure zwar einen dicken Niederschlag, derselbe enthielt jedoch fast nur Peptone; der geringe, in heissem Wasser lösliche Theil wurde auf Hexonbasen geprüft. Mit Sicherheit konnte nur Arginin nachgewiesen und als Silbernitratdoppelsalz analysirt werden. Vielleicht gestattete nur die sehr geringe Menge der Diaminosäuren nicht, andere Vertreter dieser Gruppe aufzufinden.

Da bei Ausführung dieser Versuche E. Fischer seine neue Methode der Veresterung von Monoaminosäuren noch nicht bekannt gegeben hatte, so wurde zum Nachweis Letzterer noch nach der früheren Weise verfahren, welche allerdings viel zu wünschen übrig lässt. Durch fractionirte Krystallisation, Darstellung der Kupfersalze u. s. w. erhielten wir Leucin und Asparaginsäure.

Es ergibt sich hieraus, besonders aus der Bildung von Aminosäuren und speciell von Arginin, dass das den Bakterien inne-

¹⁾ O. Emmerling, diese Berichte 29, 2721 [1896].

wohnende Enzym ein ausgesprochen tryptisches ist. Seine Wirkung ist aber sehr langsam und unvollständig und nähert sich hierin einem anderen pflanzlichen Enzym, dem Papayotin, welches der Eine von uns untersucht hat, und über welches in der voranstehenden Mittheilung berichtet wird.

Auch einfachere Stickstoffverbindungen, wie der Harnstoff, werden durch den *Bacillus fluorescens* angegriffen, in diesem Falle in Ammoniumcarbonat übergeführt. Es wurden in 5-procentiger Lösung in 8 Tagen 16 pCt. hydrolysiert; das Ammoniak tödtet aber dabei die Bakterien.

Gegen Rohrzucker, Maltose, Milchzucker, Amygdalin, α - und β -Methylglucosid verhalten sich die Bakterien (in Gegenwart von Toluol) indifferent, Stärke und Trehalose werden langsam hydrolysiert.

Während andere in Faulflüssigkeiten vorkommende Bakterien (*Bacillus aërogenes*), wie der Eine¹⁾ von uns nachgewiesen hat, die Aepfelsäure leicht zu Bernsteinsäure reduciren, zeigt der *Bacillus fluorescens*, obschon ihm starke reducirende Eigenschaften zukommen, letztere Wirkung nicht. Seine reducirende Eigenschaft kann man leicht daran erkennen, dass man gewöhnliche Nährgelatine mit einer Spur selenigsaurem Natrium versetzt und auf die Oberfläche den Mikroben aufstreicht, bereits nach 12 Stunden ist die Fläche von ausgeschiedenem Selen blutroth gefärbt. Trotzdem ist der Mikrobe nicht ohne Einwirkung auf die Aepfelsäure; er verwandelt dieselbe vielmehr, und dies ist unseres Wissens noch nicht beobachtet worden, durch Wasserabspaltung in Fumarsäure.

Bemerkt muss noch eine synthetische Wirkung der Bakterien werden. In älteren Culturen in Fleischbrühe bilden sich zähe schleimige Massen, welche durch Alkohol und Essigsäure gefällt werden können. Sie sind stickstoffhaltig, werden aber durch Erhitzen mit Schwefelsäure in eine Fehling'sche Lösung reducirende Substanz übergeführt. Diese giebt mit Phenylhydrazin Glucosazon; es liegt hier also, wie beispielsweise bei dem *Bacterium xylinum*, eine chitinartige Bakterienhülle vor.

¹⁾ O. Emmerling, diese Berichte 32, 1915 [1899].