

Über die Einwirkung der Bacillen des malignen Oedems auf Kohlehydrate

(I. Mittheilung)

von

Richard Kerry und **Sigmund Fränkel.**

Dr. med. et phil.

Stud. med.

Aus dem Laboratorium für medicinische Chemie der
k. k. Universität in Wien.

(Vorgelegt in der Sitzung am 3. Juli 1890.)

Im Anschlusse an die Untersuchung von Kerry über die Eiweisszersetzung durch die Bacillen des malignen Oedems¹ haben wir die Einwirkung der Oedembacillen auf Kohlehydrate der Untersuchung unterzogen und wollen wir vorerst über die Einwirkung auf Traubenzucker berichten.

Die Kolben, welche je 150 *g* wasser- und aschenfreien amerikanischen Traubenzucker² (Trommsdorf), 7·5 *g* Pepton, 15 *g* Fleischextract (Kemmerich) und 75 *g* schwach geglühtes Calciumcarbonat in 3 *l* Wasser enthielten, wurden sorgfältig sterilisirt, in bereits beschriebener¹ Weise geimpft und nach Vertreibung der Luft durch Kohlensäure bei Bruttemperatur gehalten.

Die Versuche wurden nach 10, 14 und 20 Tagen unterbrochen. Während des Versuches war die Gasentwicklung sehr schwach. Nach Unterbrechung desselben reagirte die Flüssigkeit schwach sauer und roch deutlich nach Käse.

¹ Über die Zersetzung des Eiweisses durch die Bacillen des malignen Oedems. Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wissensch. in Wien. Bd. 98, Abth. 3. 1889.

² Der Zucker wurde auf Äthylalkohol geprüft und frei davon gefunden.

Bei der Verarbeitung hat sich folgende Methode als die zweckmässigste erwiesen: Die Flüssigkeit wurde zur Fällung des gelösten Kalkes mit Oxalsäure versetzt, vom oxalsauren Kalke abfiltrirt und das Filtrat destillirt. Die Destillation wird so lange fortgesetzt, bis die übergende Flüssigkeit mit Jod und Kalilauge die Jodoformreaction nicht mehr gibt und nicht mehr sauer reagirt. In das Destillat gehen flüchtige Säuren und Alkohole über. Zur Trennung dieser Substanzen wird es mit Baryumcarbonat bis zur neutralen Reaction versetzt und abermals destillirt. Es genügt behufs Gewinnung der Alkohole ein Drittel des ursprünglichen Volums abzudestilliren, umsomehr, als die Hauptmenge der Alkohole schon mit den ersten Cubikcentimetern übergeht.

Aus diesem Destillate wurden durch wiederholtes Aussalzen mit vorher geglühtem kohlen-saurem Kalium und Destilliren endlich wenige Cubikcentimeter eines Alkohols gewonnen, welcher über Calcium- und Baryumoxyd, getrocknet bei $77\cdot4^\circ$, überging.

Die Reactionen mit Benzoylchlorid, mit Schwefelsäure und essigsäurem Salze, der Aldehydgeruch und die Grünfärbung bei der Oxydation mit chromsaurem Kalium und Schwefelsäure deuteten auf Äthylalkohol. Zum Schlusse gelang es, die Oxydation bis zur Essigsäure durchzuführen. Die geringe Menge des gewonnenen Silbersalzes reichte für eine quantitative Analyse nicht aus, jedoch erhielten wir mit dem Salze die bekannte Rothfärbung durch Eisenchlorid. Nach diesen Reactionen und dem Siedepunkte¹ ist es daher zweifellos, dass der bei dieser Gährung gefundene Alkohol Äthylalkohol war.

Die Lösung der an Baryum gebundenen flüchtigen Säuren wurde zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit heissem Alkohol wiederholt aufgenommen und nach wiederholtem Umkrystallisiren der fractionirten Krystallisation unterzogen. Bei der Analyse ergaben $0\cdot3062\text{ g}$ Barytsalz $0\cdot2363\text{ g}$ schwefelsauren Baryt, entsprechend $45\cdot37\%$ Ba. Buttersaures Baryum verlangt $44\cdot05\%$ Ba. Die flüchtige Säure ist daher Buttersäure, als welche sie auch durch den Geruch erkannt werden konnte.

Der Rückstand von der ersten Destillation enthält die nicht flüchtigen Säuren; er wurde zur weiteren Untersuchung zum

¹ Reiner Aethylalkohol siedet bei 760 mm bei $78\cdot4^\circ$ (Mendelejew).

Syrup eingedampft. In der Kälte krystallisirte dann die im Überschusse zugesetzte Oxalsäure heraus. Um die Oxalsäure sicher völlig herauszuschaffen, haben wir den von der auskrystallisirten Oxalsäure abgesaugten Syrup mit Baryumcarbonat bis zur Neutralisation versetzt und vom unlöslichen oxalsauren Baryt abfiltrirt. Das Filtrat wurde mit Schwefelsäure zerlegt und mit Äther aufgenommen. Nach dem Abdestilliren derselben blieb ein sauer reagirender Syrup zurück, welcher die Uffemann'sche Reaction auf Milchsäure gab und daher mit kohlsaurem Zink gekocht wurde. Das gebildete Zinksalz wurde öfter umkrystallisirt und zum Schlusse der fractionirten Krystallisation überlassen.

Die erste Fraction erwies sich nach folgenden Zahlen als reines gährungsmilchsaures Zinksalz:

0·9827 *g* lufttrockenes Salz' verliert bei 115° getrocknet 0·1791 *g*, entsprechend 18·22% Krystallwasser. Gährungsmilchsaures Zink enthält 18·18% Krystallwasser.

1·6947 *g* des Salzes ergab nach dem Glühen 0·4655 *g* ZnO, entsprechend 27·47%.

Gährungsmilchsaures Zink verlangt 27·27% ZnO. Dieses Salz zeigte im Lipich'schen Apparate geprüft, keine Drehung der Polarisationsebene.

Die zweite Fraction erwies sich als eine Mischung von gährungsmilchsaurem mit fleischmilchsaurem Salze.

0·3793 lufttrockenes Salz verliert bei 115° getrocknet 0·0669 *g*, entsprechend 17·64% Krystallwasser. Gährungsmilchsaures Salz enthält 18·18%, fleischmilchsaures 12·91% Krystallwasser. Das Salz drehte die Polarisationsebene schwach nach links. Auch dies spricht für die Beimengung einer geringen Menge fleischmilchsauren Salzes, welches aber aus der Fleischmilchsäure im Fleischextracte Kemmerich stammt. Wir gewannen nämlich aus 15 *g* Fleischextract Kemmerich (die von uns verwendete Menge) nach unserer Bestimmung 0·1932 Zinksalz (lufttrocken). Es folgt daraus, dass die von uns verwendeten Bacillen weder Paramilchsäure bilden, noch dieselbe angreifen.

Der Versuch wurde schliesslich auch in der Weise angestellt, dass wir die Bacillen auf milchsaures Natron einwirken liessen, in der Hoffnung, in der Milchsäure die Quelle des Äthylalkohols zu finden. Bei der oben angeführten Verarbeitung ergab das erste

Destillat allerdings die Lieben'sche Jodoformreaction, es gelang uns jedoch nicht, Alkohol in genügender Menge abzuscheiden. Auch die Menge der gefundenen Fettsäure, 0·1924 Baryumsalz, war im Vergleich zur verwendeten Milchsäure zu gering, als dass wir sichere Schlüsse ziehen könnten.

Äthylalkohol als Gährungsproduct von Spaltpilzen wurde zuerst von Fitz¹ gefunden. Fitz hat bei der Vergärung von Glycerin, glycerinsaurem Kalke, Weinsäure, Äpfelsäure mit Mischculturen aus Kuhexcrementen und aus „nicht abgekochtem Heuwasser“ Äthylalkohol aufgefunden. Aus Mannit konnte er mittelst einer Reincultur seines mit unseren Bacillen nicht identischen, von ihm *Bacillus butylicus* genannten Gährungserregers ebenfalls Äthylalkohol vorfinden.

Aus Traubenzucker und als Product sicher anaërober Gärung mit Reinculturen neben Milchsäure wurde unseres Wissens Äthylalkohol noch nicht gefunden.

Vergleichen wir unsere Resultate mit denen einer ähnlichen Untersuchung von Nencki und Sieber,² so ist es auffallend, dass diese Forscher mit ihren Bacillen nur Butylalkohol erhielten, während wir nur Äthylalkohol gefunden haben. Diese Differenz zwischen unseren und den Resultaten dieser ausgezeichneten Forscher lässt nur die eine Erklärung zu, dass die „anaërobe Gärung“ nicht gleichartig abläuft, sondern je nach der Individualität des Gährungserregers verschieden in den Stoffwechselproducten ist, so dass es nicht angeht, von einer anaëroben Gärung schlechtweg zu sprechen. Auch die Resultate einer kürzlich erschienenen Untersuchung von Kitasato und Weyl³ fordern diese Auffassung.

Wir beabsichtigen in Kürze weitere Mittheilungen über Kohlehydratgärungen zu machen.

¹ Siehe Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft, 1873, 1875, 1877, 1878, 1879, 1880, 1882, 1883, 1884.

² M. Nencki und N. Sieber, Über die Bildung der Paramilchsäure durch Gärung des Zuckers. Monatshefte für Chemie. X.

³ Kitasato und Weyl, Zeitschr. für Hygiene, VIII. Bd., 404.