

# Zur Kenntniss der Eiweissfäulniss, I: Ueber die Bildung des Indols und Skatols, nach gemeinschaftlich mit H. Salkowski in Münster i/W. angestellten Versuchen.

Von

E. Salkowski in Berlin.

---

(Der Redaktion zugegangen am 7. Mai 1884.)

---

## I. Einleitung.

Im Jahre 1876 beobachtete ich in einigen Fällen von Ileus, resp. Peritonitis neben der bekannten Indicanvermehrung einen ganz ungewöhnlichen Gehalt des Harns an Phenol<sup>1)</sup>, resp. Phenolschwefelsäure. In einem dieser Harne und zwar in dem zuerst untersuchten war gleichzeitig eine grosse Quantität Benzoësäure vorhanden, welche bei weitgetriebener Destillation des Harns mit Salzsäure das ganze Kühlrohr erfüllte. Dieses Zusammentreffen von Indican, dessen Zunahme in dem Harn solcher Kranker von Jaffe nachgewiesen war, Phenol und Benzoësäure führte mich auf den Gedanken, dass die Benzoësäure wohl gleichfalls durch Fäulniss im Darmkanal gebildet werden möchte. Die Analogie mit den grossen Herbivoren, in deren Darm die aufgenommene Nahrung lange Zeit verweilt, und deren Harn gleichfalls durch diese drei Substanzen charakterisirt ist, lag zu nahe, als dass sie übersehen werden konnte<sup>2)</sup>.

---

<sup>1)</sup> Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften 1876, S. 818.

<sup>2)</sup> Damit soll nichts für die Abstammung des Phenols aus Eiweiss gesagt sein, denn für dieses waren recht wohl noch andere Möglichkeiten denkbar, ausser der Abstammung direkt aus dem Eiweiss.

Weitere Untersuchungen des Harns von solchen Kranken liessen nun freilich eine derartige Zunahme nicht erkennen und die oben erwähnte Beobachtung klärte sich bei näherer Nachforschung in unerwarteter Weise auf: es ergab sich, dass der Kranke, von dem der Urin stammte, sub finem vitæ Benzoësäure als Medicament erhalten hatte. Auch meine Versuche, künstlich, durch Unterbindung des Darmkanals an Hunden eine gesteigerte Ausscheidung von Benzoësäure durch den Harn herbeizuführen, hatten keine beweisenden Resultate<sup>1)</sup>. Der Gedanke war indessen einmal gegeben und trotz des erwähnten Misserfolges hielt ich es für der Mühe werth, Fäulnissversuche hierüber anzustellen, für welche Nencki durch massgebende Versuche die Wege geebnet hatte. Die Aussicht, auf diesem Wege zum Ziel zu kommen, schien darum nicht ganz ausgeschlossen, weil Nencki die Untersuchung nicht speciell auf die etwaige Entstehung von Benzoësäure bei der Fäulniss gerichtet hatte.

Ich wählte zu diesem ersten Versuch<sup>2)</sup> Hornsubstanz, trotzdem sie sehr schwer fault, weil diese bekanntlich viel Tyrosin liefert, man also, meiner Ansicht nach, am ehesten ein positives Resultat erwarten konnte. Meine Voraussetzung wurde nicht getäuscht; es fand sich zwar nicht Benzoësäure, wohl aber ein Homologes derselben, die Phenyllessigsäure, später auch Hydrozimmtsäure, welche sich dann in der That als die Vorstufe der Benzoësäure im Thierkörper erwies. Es gelang mir, für die Fortsetzung der Untersuchung meinen Bruder zu interessiren, der sich des Gegenstandes in der nachdrücklichsten Weise annahm; ich kann die Förderung, welche die ganze Arbeit durch ihn erfahren hat, nicht genug dankbar anerkennen. Der Natur der Sache nach gestaltete sich die ursprünglich auf eine specielle Frage gerichtete Untersuchung bald zu einer Untersuchung der Fäulnissprodukte überhaupt. Einerseits konnten wir uns nicht entschliessen, die bei der Verarbeitung des tädiosen Materials erhaltenen Nebenprodukte fortzuwerfen, andererseits war es

---

<sup>1)</sup> Virchow's Archiv, Bd. 73, S. 421.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift Bd. II, S. 420.

auch nicht möglich, vor auffallenden Beobachtungen die Augen zu schliessen, und die Verfolgung derselben führte weiter und weiter. Sie führte zur Auffindung mancher theils an sich neuer, theils als Produkte der Fäulniss noch nicht bekannter Substanzen, die wir — mein Bruder und ich — in einer Reihe von Mittheilungen in den Berichten der deutschen chemischen Gesellschaft beschrieben. Allmählig drängten sich auch Fragen über den Zusammenhang der verschiedenen Fäulnissprodukte auf, deren Verfolgung mehrfach und unvermeidlich zu Berührungen mit den Arbeiten anderer Forscher führten. Das Material wuchs durch alle diese Arbeiten mehr und mehr an, sodass es hohe Zeit erschien, eine zusammenfassende Darstellung unserer Resultate zu versuchen. Die ursprüngliche Absicht, dieses in einer Arbeit zu thun, was sachlich von grossem Vortheil gewesen wäre, erwies sich als unthunlich wegen der Fülle des Materials und so blieb nichts übrig, als die einzelnen Fäulnissderivate oder Gruppen derselben gesondert zu besprechen.

Die Abfassung der vorliegenden Mittheilung habe ich allein übernommen, da mein Bruder sich wegen anderweitiger Arbeiten nicht an derselben betheiligen konnte, die Verschiedenheit des Wohnortes ohnehin dieser gemeinsamen Thätigkeit fast unübersteigliche Hindernisse in den Weg gelegt hätte. Für den Wortlaut und die in der Arbeit ausgesprochenen Anschauungen bin ich daher allein verantwortlich.

## II. Allgemeiner Plan und Anordnung der Versuche.

Als Material für die Versuche benutzten wir in erster Linie Blutfibrin und Muskelfleisch, daneben Serumalbumin. Zur Beantwortung spezieller im Laufe der Untersuchung auftauchenden Fragen sind noch einige andere Substanzen zur Untersuchung herangezogen, wie entfettete Fleischrückstände und aus Trypsinverdauung stammendes Pepton, Leim und Hornsubstanz, doch sollen die an den beiden letzteren Materialien erhaltenen Resultate hier zunächst nicht mit berücksichtigt werden, unsere Mittheilung sich vielmehr auf die eigentlichen Eiweisskörper beschränken. Zur Wahl des Muskelfleisches

bestimmten uns verschiedene Rücksichten. Einerseits der Umstand, dass es leicht in grösserer Menge zu beschaffen ist, andererseits die grosse Fäulnissfähigkeit desselben. Ausserdem bietet die Fäulniss des Fleisches auch ein besonderes physiologisches Interesse, insofern vielfach ein grosser Theil des Eiweiss der Nahrung in dieser Form aufgenommen zu werden pflegt. Freilich darf bei der Beurtheilung der Produkte der Fäulniss in diesem Fall nicht ausser Acht gelassen werden, dass das Fleisch kein reines Eiweissmaterial darstellt.

Die Versuchsbedingungen suchten wir in den einzelnen Versuchen möglichst gleichmässig zu gestalten. Die Anordnung war stets folgende:

2 Kilo feingehacktes Pferdefleisch — um dieses als Beispiel zu wählen — wurden in einem grossen Kolben mit 8 Liter Flusswasser von  $40\text{—}42^{\circ}$  übergossen, 200—240 ccm. kalt gesättigte Lösung von Natriumcarbonat hinzugesetzt und gut durchgeschüttelt. Diese Quantität Alkali ist erfahrungsgemäss hinreichend, um der Fäulnissmischung bis zum Ende der Fäulniss alkalische Reaktion zu bewahren; nimmt man weniger Alkali, so wird die Reaktion regelmässig neutral und schliesslich schwach sauer: das entstehende Ammoniak reicht also unter unseren Versuchsbedingungen bei Weitem nicht aus, um die entstehenden Säuren zu binden. Den Gehalt von 2 Kilo Fleisch an Eiweiss kann man auf rund 400 gr. veranschlagen; es kommt somit 1 Theil Eiweiss auf 20 Theile zugesetztes Wasser. Dieses Verhältniss ist auch in allen anderen Versuchen annähernd festgehalten.

Das Gemisch wurde alsdann mit einer faulenden Flüssigkeit geimpft, von deren möglichst gleichmässiger Beschaffenheit der Verlauf des Versuches wesentlich abhängt. Um diese Gleichmässigkeit zu erreichen, benutzten wir als Gährungserreger stets faulende Fleischmaceration. Eine kleine Quantität feingehacktes Fleisch wurde mit Wasser zu einem ganz dünnen Brei angerührt, mit Natriumcarbonat versetzt bis zur deutlich alkalischen Reaktion, dann in einem Wärmeschrank bei  $40\text{—}42^{\circ}$  sich selbst überlassen. Bereits nach 12 Stunden zeigt die Mischung in der Regel Fäulnisserscheinungen.

nungen, nach 24 Stunden ist sie in voller Fäulniss und jeder Tropfen gedrängt voll von Organismen, welche bei der mikroskopischen Untersuchung lebhaftere Ortsbewegungen zeigen. Wir wissen wohl, dass es sich dabei um sehr verschiedene Arten von Organismen handelt, eine gewisse Gleichmässigkeit im mikroskopischen Bilde können wir bei möglichst gleichmässiger Herstellung der Fleischmischung trotzdem behaupten. Von dieser 24 Stunden alten Flüssigkeit wurden einige Cubiccentimeter, meistens auch einige feste Partikelchen — dieses ist namentlich bei der Fäulniss sehr wenig quellenden Materials, wie Hornsubstanz wichtig, — dem Kolbeninhalt zugefügt, der Kolben alsdann mit einem Kork locker geschlossen und in dem Wärmekasten gesetzt, dessen Temperatur zwischen 40 und 42° schwankte. Zu allen Versuchen diente derselbe Kolben, der von der Mischung etwa zu  $\frac{3}{4}$  gefüllt war.

Nach Ablauf der ersten Tage, sobald die Gasentwicklung gering geworden, wurde in der Regel der Kork fester aufgesetzt. In vielen Versuchen<sup>1)</sup> kam ein Kork in Anwendung, der mittelst eingesetzter Glasröhre und Gummischlauch mit einer Waschflasche in Verbindung stand. Der Schlauch trug eine Klemme, welche nach Ablauf der ersten Tage ganz geschlossen und nur jeden Tag ein oder mehrere Male geöffnet wurde, um den etwa entwickelten Gasen den Austritt zu gestatten, jedoch ist die Gasentwicklung nach Ablauf der ersten Tage stets sehr gering, selbst Null.

Man hätte auch die Fäulnissmischung der spontanen Aussaat überlassen können, wir zogen es indessen vor, die Mischung in der beschriebenen Weise zu «impfen», da bei diesem Verfahren der Beginn der Fäulniss zeitlich schärfer präcisirt ist, man eher berechtigt ist, nach der Dauer der Digestion in Tagen zu rechnen.

Der Zusatz von Nährsalzen erwies sich beim Fleisch als entbehrlich. Bei anderen Materialien mussten solche zugesetzt werden, wie später ausgeführt werden soll.

Die Bedingungen, welche wir bei allen Versuchen mög-

---

1) Die späteren Versuche sind stets so angestellt.

lichst gleich zu halten suchten, sind also: Das Verhältniss zwischen Eiweissmaterial und Wasser, die Temperatur, der Grad der Alkaleszenz der Flüssigkeit, der beschränkte Zutritt von Luft und bis zu einem gewissen Grade die Natur der Organismen. Dagegen wurde variirt: die Natur des fäulnissfähigen Materials, die Zeitdauer der Fäulniss und in einzelnen Versuchen auch der Zutritt der Luft.

Man könnte uns vielleicht einen Vorwurf daraus machen, dass wir nicht bestimmte, vorher angezüchtete Organismen zur Zersetzung des Eiweiss angewendet haben, wir glauben indessen gute Gründe für unser Vorgehen geltend machen zu können. Erstens ist es bisher ganz unbekannt, welche Organismen besonders befähigt sind, die Spaltung des Eiweiss zu bewirken<sup>1)</sup> und diese zu ermitteln ist eine Aufgabe von so erheblichem Umfange, dass man uns wohl nicht die Verpflichtung zuschieben wird, ihre Lösung ad hoc zu versuchen. Ausserdem aber ist zu erwarten, dass gerade diese Aufgabe durch eine vorgängige genaue, womöglich quantitative Ermittlung der Fäulnissprodukte, soweit dieselben nicht schon bekannt sind, einige Förderung erfahren würde. Zweitens wäre es bei der Anwendung bestimmter, reingezüchteter Arten von Spaltpilzen natürlich nothwendig gewesen, die zur Zersetzung bestimmten Materialien vorher zu sterilisiren. Dieses wäre überhaupt nur bei einem bestimmten Theil des Materials ohne allzu grosse Aenderungen der physikalischen Eigenschaften möglich gewesen, welche für die Schnelligkeit des Eintritts und Verlaufes der Fäulniss sehr wesentlich sind. Uebrigens bietet die Sterilisirung so grosser Quantitäten von Material, wie wir sie anwendeten — und zur genaueren Untersuchung der Produkte anwenden mussten — ganz bedeutende technische Schwierigkeiten. Eine solche vorgängige Sterilisirung glaubten wir bei der Impfung mit aus spontaner Aussaat hervorgegangenen Pilzen entbehren zu können, da es nicht anzunehmen war, dass auf der Oberfläche der Materialien andere Keime haften sollten, als die gewöhnlich in der Luft

---

<sup>1)</sup> Oder war es wenigstens, als wir unsere Versuche machten, vgl. *Bienstock: Fortschritte der Medicin* 1883, Nr. 19.

und an der Oberfläche der Gegenstände vorhandenen. Endlich hat es ja auch an sich ein gewisses Interesse, diejenige Zersetzung des Eiweiss zu untersuchen, die durch spontane Aussaat hervorgerufen wird: sie kommt gewiss der im Darm unter physiologischen Verhältnissen vor sich gehenden am nächsten; dass eine Ergänzung durch systematische, mit verschiedenen rein gezüchteten Bacterienformen angestellte, Versuche sehr zu wünschen bleibt, wollen wir durchaus nicht in Abrede stellen.

### III. Verarbeitung des Fäulnissgemisches zur Darstellung von Indol und Skatol. — Flüchtige Nebenprodukte.

Wenn die Fäulnissmischung eine bestimmte Zeit im Brutkasten gestanden hatte, wurde sie ohne vorgängige Filtration und ohne Säurezusatz bis auf 1—1½ Liter Rückstand destillirt. In das stark ammoniakalische Destillat gehen, wie wir uns überzeugt haben, Indol und Skatol so gut wie vollständig über, Phenol bis auf ganz verschwindend kleine Reste, die in der rückständigen Flüssigkeit bleiben. Ausserdem befinden sich im Destillat — abgesehen vom Schwefelwasserstoff, resp. Schwefelammonium und Ammoniumcarbonat, resp. zusammengesetzten Ammoniaken, die wir nicht berücksichtigt haben — noch kleine Mengen flüchtiger fetter und aromatischer Säuren in Form von Ammonsalzen, während der grössere Theil dieser Säuren als Natriumsalze im Destillationsrückstand bleibt. Den Zusatz von Säuren vor der Destillation, durch welche der vollständige Uebergang des Phenols allerdings erleichtert wäre, haben wir vermieden, wegen der möglicher Weise eintretenden Einwirkung auf die Fäulnissprodukte.

Neben diesen bekannten und gut charakterisirten Körpern sind im Destillat noch einige vorhanden, deren Natur wegen zu geringer Mengen bisher nicht mit Sicherheit festgestellt werden konnte.

1. Die noch vor dem Beginn des Siedens übergehenden Wasserdämpfe führten häufig höchst geringe Mengen eines schwach gelblichen in Wasser untersinkenden Oeles von ent-

schieden mercaptanartigem Geruch<sup>1)</sup>. Durch die reichliche Bildung von Schwefelnatrium beim Erhitzen mit Natrium erwies sich dasselbe als stark schwefelhaltig. Die Prüfung auf Stickstoff ergab ein negatives Resultat. Die geringe Menge, welche sich stets nur fand, liess eine genauere Untersuchung nicht zu, jedoch glauben wir an der schon früher geäusserten Ansicht,<sup>2)</sup> dass dieses Oel in die Reihe der Mercaptane gehört, festhalten zu müssen. Als unterstützendes Moment für diese Deutung lässt sich noch anführen, dass faulende Mischungen zu einer Zeit, in der schon reichlich Indol nachweisbar ist, also eine erhebliche Spaltung von Eiweiss stattgefunden hat, oft nur äusserst wenig Schwefelwasserstoff enthalten. Der Schwefel des zersetzten Eiweiss kann in diesem Fall, abgesehen von dem Antheil, welcher in Schwefelsäure übergeht, kaum eine andere Form angenommen haben, als die eines schwefelhaltigen organischen Körpers. Das Auftreten derartiger Substanzen ist von besonderem Interesse mit Rücksicht auf die von Baumann und Preusse<sup>3)</sup>, sowie von Jaffe<sup>4)</sup> entdeckte Bildung der Mercaptursäuren. Ob das von uns beobachtete Oel identisch ist mit dem von Brieger in den Destillaten aus Hundefäces, dann auch aus jauchigen pathologischen Flüssigkeiten erhaltenen oder überhaupt etwas damit zu thun hat, lässt sich bei dem Mangel genauerer Charakterisirung der einen, wie der anderen Oele nicht entscheiden.

2) Neben Indol und Skatol scheint das Destillat noch einen dritten indolartigen Körper zu enthalten. Derselbe ist charakterisirt durch die Purpurfärbung, welche die Lösung bei Zusatz von  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{5}$  des Volums reiner salpetrigsäurefreier Salpetersäure (vom specif. Gew. 1,2) in der Kälte allmähig annimmt. Indol und Skatol geben diese Reaction nicht.

---

<sup>1)</sup> Aus dem Fibrin wurde meistens an Stelle eines Oeles eine gelblich-weiße, halbfeste Substanz erhalten, die sich durch Filtration abscheiden liess. Dieselbe bestand z. Th. aus Fettsäuren, z. Th. aber, ihrem starken Mercaptangeruch nach aus derselben Substanz, wie das Oel.

<sup>2)</sup> Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XII, S. 651.

<sup>3)</sup> Ebendasselbst, Bd. XII, S. 846.

<sup>4)</sup> Ebendasselbst, Bd. XII, S. 1092.

Sécretan<sup>1)</sup> beschreibt die gleiche Reaction an der indolartigen Substanz vom Schmelzpunkt 85°, die er aus Eier- und Muskelalbumin bei sehr lange protrahirter Fäulniss erhalten hatte. Diese Substanz von Sécretan stellte jedenfalls ein noch nicht ganz reines Skatol dar. Von diesem erwähnt Brieger in seiner ersten Mittheilung<sup>2)</sup> — die ebenso wie diejenige Sécretan's aus dem Laboratorium von Nencki stammt — eine Reaction mit reiner Salpetersäure nicht. In einer späteren Mittheilung<sup>3)</sup> spricht Brieger dagegen von der Violettfärbung des Skatols in wässeriger Lösung mit verdünnter Salpetersäure unter den Erkennungsmitteln desselben. Das reinste uns zu Gebote stehende, aus Skatolcarbonsäure abgespaltene, Skatol gab mit reiner Salpetersäure in der Kälte nur eine ganz schwache vorübergehende röthliche Färbung, welche mit der erwähnten Purpurfärbung gar nicht zu vergleichen ist. Ebenso wenig gibt Indol Purpurfärbung mit reiner Salpetersäure. Versetzt man eine Indolösung 1:1000 mit etwas salpetrigsäurefreier Salpetersäure, so trübt sie sich allmählig und es scheidet sich schliesslich ein bläulich-weisser Niederschlag aus.

Es scheint sich danach in der That um einen Körper sui generis zu handeln, dessen Reindarstellung jedoch, der zu geringen Menge wegen, nicht geglückt ist. Die fragliche Substanz ist mit Wasserdämpfen weniger flüchtig, wie das Indol und Skatol. Destillirt man von einem Fäulnissdestillat etwa die Hälfte auf's Neue ab, so gehen bei weiterer Destillation keine nachweisbaren Mengen Indol und Skatol mehr über. Die rückständige Flüssigkeit gibt natürlich auch keine Reaction mehr auf Indol oder Skatol, sie färbt sich dagegen mit reiner Salpetersäure in der Kälte oder bei gelindem Erwärmen purpurroth oder violett. Beim Schütteln mit Aether geht die fragliche Substanz nur wenig in diesen über, mehr in Chloroform. Da im Allgemeinen bei der Verarbeitung des Destillates eine Trennung desselben in mehrere

1) Nach Maly's Jahresbericht für 1876, S. 39.

2) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. X, S. 1027.

3) Diese Zeitschrift, Bd. IV, S. 415.

Antheile durch die Rücksicht auf andere Bestandtheile — das Phenol — verboten war, so konnte die Substanz auch in das Indol, resp. Skatol gelangen, indessen kann diese Verunreinigung nur sehr gering sein: die Schwerlöslichkeit in Aether, sowie der bei der weiteren Verarbeitung des Aetherauszuges eingeschlagene Weg schliessen die fragliche Substanz fast ganz aus.

Der eine von uns (E. S.) hat früher schon<sup>1)</sup> auf das frühzeitige Auftreten dieser Substanz vor dem Indol hingewiesen, sowie auf ihre Anwesenheit in den Destillaten von Darminhalt nach einigen Versuchen von J. Munk. Es ist l. c. auch die Frage aufgeworfen, ob vielleicht diese Substanz auch der Rothfärbung zu Grunde liegt, welche ganz gewöhnlich die Destillate aus menschlichem Harn mit Salpetersäure zeigen<sup>2)</sup>. Die Fütterungsversuche mit solchen Destillaten, welche die Reaction mit kalter Salpetersäure in ausgeprägter Weise zeigten, haben wenigstens an Hunden häufig, aber nicht immer, positive Resultate gegeben: das nach der Fütterung durch Destillation des Harns mit Weinsäure erhaltene Destillat gab oft mit Salpetersäure eine unzweifelhafte Reaction, während dieselbe vorher, was bei Hundeharn die Regel, ausgeblieben war.

Bemerkenswerth ist noch, dass die fragliche Substanz aus alkalischer Lösung schwerer in das Destillat übergeht, wie aus neutraler oder saurer.

Auch diese Substanz hat Brieger<sup>3)</sup> vielleicht schon in Händen gehabt. Brieger gibt an, dass Destillate von Fäulnismischungen, die fünf Wochen lang bei 3—9° C. gestanden hatten, statt des Indols, das nur in Spuren vorhanden war, ein «bräunliches, furchtbar stinkendes Oel» enthielten, das sich in heissem Wasser löse. Die Lösung färbte sich mit concentrirter oder verdünnter Salpetersäure schön violett. Nicht in Uebereinstimmung ist damit freilich, dass nach Einspritzung des Oels bei Kaninchen reichlich

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. II, S. 420.

<sup>2)</sup> Pflüger's Archiv, Bd. II, S. 364 und Bd. XVI, S. 309.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. III, S. 146.

Indican im Harn auftrat, wenigstens haben wir bei Fütterung der wässerigen Destillate bei Kaninchen nichts davon bemerkt. Unsere Substanz ist ferner bei gewöhnlicher Temperatur fest, wenigstens hinterlassen die Chloroformauszüge der erwähnten Destillate beim Verdunsten einen spröden, harzartigen Rückstand, der die Reaction besonders schön zeigt, wenn man eine Quantität in Alkohol löst, stark mit Wasser verdünnt und alsdann Salpetersäure zusetzt.

Mit der von uns als Fäulnisprodukt aufgefundenen Skatolcarbonsäure hat die fragliche Substanz nichts zu thun.

Brieger<sup>1)</sup> gibt noch an, dass die sauren Destillate von Fäulnisgemischen, welche sehr lange Zeit der Fäulnis unterworfen waren, mit rauchender Salpetersäure eine weissliche Trübung zeigte, welche nicht auf Skatol zu beziehen sei. Die der Reaction zu Grunde liegende Substanz gehe nicht aus alkalischer Lösung, sondern nur aus saurer in Aether über. Wir haben nichts von einer derartigen Substanz beobachtet: es ist auch nicht recht ersichtlich, inwieweit Brieger dabei den Schwefelwasserstoff ausgeschlossen hat. Die Anwesenheit desselben in den Destillaten verbietet selbstverständlich auch die direkte Prüfung der Destillate auf Skatol mit rauchender Salpetersäure: auch wo kein Skatol vorhanden ist, entsteht Trübung durch ausgeschiedenen Schwefel.

Für die Trennung der im Destillat vorhandenen Körper bot sich nun eine Reihe von Wegen dar. Zunächst wurde in der Regel das ammoniakalische Destillat mit Salzsäure angesäuert (meistens wurde schon Salzsäure beim Auffangen des Destillates vorgelegt) und mit Aether geschüttelt, der die in Rede stehenden Substanzen leicht aufnimmt. Fast stets wurde das angesäuerte Destillat vor dem Ausschütteln mit Aether mit etwas Kupfersulfatlösung versetzt und filtrirt. Der entstehende Niederschlag von Schwefelkupfer reisst gleichzeitig die kleinen Mengen des erwähnten schwefelhaltigen Körpers, fester Fettsäuren und etwa ausgeschiedenen Schwefel mit: das vorher meistens trübe Destillat erscheint nach dieser

---

<sup>1)</sup> Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. III, S. 146.

Behandlung wasserklar; für die Reinheit der aus dem Destillat darzustellenden Produkte, namentlich des Indols und Skatols ist diese vorgängige Behandlung mit Kupfersulfat von wesentlicher Bedeutung.

Die Ausschüttelung des Destillats mit Aether geschah in der Weise, dass ein und dieselbe Quantität Aether wiederholt mit dem gleichen Volumen des Destillates geschüttelt und die durch Auflösung von Aether in der wässerigen Lösung verloren gegangene Quantität Aether durch Nachgiessen von Aether ergänzt wurde. War etwa die Hälfte des Destillats durch eine Portion Aether erschöpft, so wurde abdestillirt und die andere Hälfte mit dem überdestillirten Aether geschüttelt. Es war so möglich, das Destillat eines Versuches — wir verstehen hierunter einen solchen mit etwa 400 gr. trockenen Eiweiss — mit etwa 2 Liter Aether zu erschöpfen. Man kann sich leicht überzeugen, dass Indol, resp. Skatol und Phenol (Kresol) bei dieser Behandlung vollständig in den Aether übergehen, während von den flüchtigen fetten und aromatischen Säuren kleine Quantitäten der Extraction entgangen sein mögen, doch ist dieser Umstand bedeutungslos, da die Mengen dieser Säuren in den Destillaten überhaupt eine sehr geringe ist. Es verdient noch bemerkt zu werden, dass die Prüfung der wässerigen ätherhaltigen Flüssigkeit auf etwa rückständiges Phenol sich nicht einfach durch Zusatz von Bromwasser zur ätherhaltigen Lösung ausführen lässt, vielmehr ist es nothwendig, den Aether vorher aus der Lösung durch gelindes Erwärmen zu entfernen: schwache Phenollösungen, welche an sich eine sehr deutliche Reaction mit Bromwasser geben, thun dieses nicht mehr, wenn sie vorher mit soviel Aether geschüttelt werden, als sich in dem Wasser aufzulösen vermag.

Die ätherische Lösung wurde, nachdem ihr Volumen durch Abdestilliren etwa auf  $\frac{1}{2}$  Liter reducirt war, 2 mal mit einer hinreichenden Menge Natronlauge sehr anhaltend durchgeschüttelt: die Säuren und das Phenol gehen dabei so gut wie vollständig in die Natronlösung über, während das Indol in der Aetherlösung bleibt. Diese wurde nun bei nie-

driger Temperatur abdestillirt und der bleibende noch etwas ätherhaltige, ölige Rückstand unter Zusatz von Natronlauge zur Zurückhaltung etwa noch vorhandenen Phenols nach der Angabe von Baumann<sup>1)</sup>, sowie von Resten flüchtiger Säuren der Destillation im Dampfströme unterworfen, bis kleine Proben des Destillates sich völlig frei von Indol erwiesen<sup>2)</sup>. Wechselt man in diesem Zeitpunkt die Vorlage, so erhält man nunmehr ein Destillat, welches in der oben beschriebenen Weise mit Salpetersäure in der Kälte reagirt<sup>3)</sup>. Indol (und Skatol) wurden in der gewöhnlichen Weise durch Ausschütteln in Aetherlösung übergeführt, diese bei gelinder Temperatur abdestillirt und schliesslich in einem hochwandigen Wiegegäschen verdunstet. Der Rückstand erstarrte alsbald nach dem Erkalten; nach mehrtägigem Stehen über Schwefelsäure wurde das Gewicht desselben festgestellt. Gewichtsconstanz ist wegen der Flüchtigkeit des Indols allerdings nicht zu erreichen, allein schon nach einigen Tagen stellt der tägliche Gewichtsverlust eine constante, oder annähernd bis auf einige Zehntel Milligramm constante Grösse dar, deren Höhe sich bei einer Indolmenge von etwa 4 gr. je nach der Grösse des Exsiccators zwischen 0,7 und etwa 2 mgr. pro Tag bewegt<sup>4)</sup>.

1) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. X, S. 685.

2) Um diese Probe anstellen zu können, war es nothwendig, gegen Ende der Operation das Kühlrohr durch einen Strom von Aetherdampf, resp. Aether von anhängendem Indol zu befreien. Der condensirte indolhaltige Aether fliesst in die dieselbe Vorlage, welche das Indol, resp. das wässrige Destillat aufnahm.

3) Im Destillationsrückstand scheidet sich beim Stehen eine bräunliche, harzartige spröde Substanz meistens in Kügelchen aus, welche ein ganz eigenthümliches Verhalten zu Salpetersäure zeigt. Löst man eine kleine Quantität der Substanz in Alkohol, verdünnt stark mit Wasser und setzt dann Salpetersäure zu, so wird die Mischung anfangs purpurroth, nach 24 Stunden aber erscheint sie häufig gelbroth. Chloroform nimmt beim Schütteln damit die Farbe von Urobilinlösung an; bei der spektroskopischen Untersuchung zeigt die Lösung einen starken schwarzen, gut begrenzten Absorptionsstreifen genau an derselben Stelle, wie eine Urobilinlösung.

4) Der Gewichtsverlust durch Verdunstung von Indol scheint kleiner zu sein, wenn man denselben Exsiccator, natürlich unter häufigem Wechsel der Schwefelsäure, sehr lange Zeit benutzt hat.

Der gewogene Rückstand besteht in der Mehrzahl der Fälle nur aus Indol, oder ganz überwiegend aus Indol, in einer kleinen Minderzahl enthält er neben Indol eine beträchtliche Quantität Skatol. Die Frage nach der Anwesenheit kleiner Mengen Skatol in diesem Indol, sowie die weitere Frage, ob ausser Skatol und Indol noch irgend etwas Anderes in demselben enthalten sei, soll weiter unten näher erörtert werden, hier nur die Bemerkung, dass irgend ins Gewicht fallende anderweitige Bestandtheile nicht darin vorhanden sind.

#### IV. Uebersicht über die einzelnen Versuche.

##### a) Versuche mit Fibrin.

1. Das zu den Versuchen verwendete Blutfibrin war mit Wasser bis zur völligen Weisse gewaschen, enthielt jedoch hie und da einige Fettklumpchen, eine gewisse Anzahl von Borsten<sup>1)</sup>, eine kleine Quantität Spreu etc., von welchen Verunreinigungen das Fibrin völlig zu säubern, sich als undurchführbar erwies. Von jeder in Arbeit genommenen Quantität Fibrin wurde sofort eine kleine Quantität abgenommen, Trockenrückstand und Aschengehalt darin bestimmt. Das Gewicht des Trockenrückstandes minus Asche wurde als reines trockenes Eiweiss angesehen.
2. Um diejenige Menge Eiweiss festzustellen, welche in Lösung gegangen, resp. zersetzt war, wurde der Destillationsrückstand unter Erhaltung alkalischer Reaction durch Zusatz von Natriumcarbonat auf ein kleines Volumen eingedampft und mit einer grösseren Menge Alkohol von 95% gefällt, der Niederschlag abfiltrirt, gründlich mit Alkohol nachgewaschen, dann andauernd bei 100—110° getrocknet. Die so erhaltenen harten Rückstände wurden gewogen, auf einer Futtermühle möglichst fein gemahlen, eine Probe des Pulvers schnell durch Verreiben weiter zerkleinert

---

<sup>1)</sup> Es stammte ausschliesslich aus Schweineblut, da in Berlin, woselbst die Fäulnismischungen sämmtlich angesetzt sind, Rinder- und Hammelblut im Centralviehhof auf Serumalbumin verarbeitet wird und für andere Zwecke nicht zu erhalten ist.

und der Stickstoff darin durch Glühen mit Natronkalk bestimmt. Das Ammoniak wurde in Salzsäure aufgefangen, die Lösung zur völligen Trockene gedampft, der Rückstand in Wasser gelöst und mit Silberlösung titirt. Aus dem Stickstoffgehalt erhielt man durch Multiplikation mit 6,25 den Eiweissgehalt des ungelösten Rückstandes. Diese Zahl von der des aschefreien trockenen Eiweiss abgezogen, ergibt die Menge des zersetzten Eiweiss<sup>1)</sup>. Wie man sieht, ist dabei die Voraussetzung gemacht, dass keine in Betracht kommenden Quantitäten Peptons der Fällung durch Alkohol entgangen sind. Diese Voraussetzung ist nicht ganz streng richtig, es geht etwas Pepton, falls es überhaupt vorhanden, auch in die alkoholischen Auszüge über. Die Quantität des überhaupt vorhandenen Peptons ist aber im Allgemeinen so gering, dass der dadurch bedingte Fehler nur sehr klein sein kann. Die Menge des zersetzten Eiweiss wird auf alle Fälle eher etwas zu gross angenommen sein.

3. Endlich ist noch zu bemerken, dass beim Fibrin sich ein Zusatz von Nährsalzen als zweckmässig erwies. Als solche dienten 2 gr. Kaliumphosphat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) und 1 gr. krystallisirtes Magnesiumsulfat auf 8 Liter Leitungswasser.

#### Versuch I. Dauer 4 Tage.

2000 gr. Fibrin = 482 gr. Eiweiss; davon gelöst = 432,29 = 90%.

Erhaltenes Indol **3,093** gr. = **7,2**<sup>0/00</sup> des gelösten.

#### Versuch II. Dauer 7 Tage.

500 gr. Fibrin. Trockengewicht und N-Gehalt des Rückstandes sind nicht bestimmt. Die in Lösung gegangene Eiweissmenge kann auf 125 gr. geschätzt werden.

Erhaltenes Indol **0,900** gr. = **7,2**<sup>0/00</sup>.

#### Versuch III. Dauer im Durchschnitt 9 Tage.

Fünf Einzelversuche von 8, 12, 10, 7 und 8 Tagen Dauer. Angewendete Fibrinmenge 10,190 gr. feucht = 2175,4 gr. trockenes Eiweiss. Davon gelöst 1973,6 gr. = 90,7%.

Die erhaltene Indolmenge ist wegen eines Verlustes bei der Bearbeitung eines Antheils (siehe Seite 439) nicht genau anzugeben, sie beträgt aber mindestens 15 gr. = **7,6**<sup>0/00</sup>.

---

<sup>1)</sup> Der Eiweissgehalt der Bacterien kommt wenig in Betracht, vgl. Versuch V.

## Versuch IV. Dauer 13 Tage.

1714 gr. Fibrin = 420,3 gr. Eiweiss. Gelöst 386 gr. = 91,8‰.

Erhaltenes Indol 4,0594 gr. = 10,5‰.

## Versuch V. Dauer 26 Tage.

2000 gr. = 406 gr. Eiweiss. Gelöst = 397,7 gr. = 98‰.

Erhaltenes Indol 3,892 gr. = 9,8‰.

## Versuch Va. Dauer 38 Tage.

2000 gr. Fibrin = 497,4 gr. Eiweiss. Gelöst 488,5 gr. = 98,2‰.

Erhaltenes Indol 5,652 gr. = 11,5‰.

Zur Erleichterung der Uebersicht folgende Tabelle:

Tabelle I. Versuche mit Fibrin.

| Nummer<br>des Versuches. | Dauer<br>der<br>Fäulniss. | In Lösung ge-<br>gangenes Eiweiss |                                       | Erhaltenes Indol |                                    | Bemerkungen.      |
|--------------------------|---------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------|------------------|------------------------------------|-------------------|
|                          |                           | gr.                               | %<br>des ange-<br>wendeten<br>Eiweiss | gr.              | ‰<br>des<br>zersetzten<br>Eiweiss. |                   |
| I.                       | 4 Tage                    | 432,2                             | 90                                    | 3,093            | 7,2                                | —                 |
| II.                      | 7 «                       | 125                               | { nicht be-<br>stimmt. }              | 0,900            | { etwa<br>7,2                      | —                 |
| III.                     | 9 «                       | 1973,6                            | 90,7                                  | 15               | 7,6                                | Geringer Verlust. |
| IV.                      | 13 «                      | 386                               | 91,8                                  | 4,0594           | 10,5                               | —                 |
| V.                       | 26 «                      | 397,7                             | 98                                    | 3,892            | 9,8                                | —                 |
| Va.                      | 38 «                      | 488,5                             | 98,2                                  | 5,652            | 11,5                               | —                 |

Das Fibrin lieferte also in unseren Versuchen zwischen 7,2 und 11,5‰ Indol, bezogen auf die in Lösung gegangene Eiweisstrockensubstanz. Die Quantität des in Lösung gegangenen Eiweiss schwankte zwischen 90 und 98,2‰.

## b) Versuche mit Fleisch.

1. Das angewendete Fleisch war frisches und möglichst fettfreies Pferdefleisch; eine so sorgfältige Reinigung von allem sichtbaren Fett, wie sie bei Stoffwechseluntersuchungen üblich ist, war allerdings bei den grossen Mengen von Material nicht ausführbar.
2. Der Eiweissgehalt ist nicht in jedem Falle bestimmt, sondern zu rund 20% angenommen.
3. Zur Ermittlung der gelösten Eiweissmenge wurde, wie bei den Fäulnissversuchen, Gewicht und N-Gehalt der

Rückstände bestimmt; der letztere ist jedoch nur summarisch für die gesammelten Rückstände ermittelt, nicht in jedem einzelnen Falle. Dadurch sind allerdings kleine Fehler bedingt, auf welche wohl die Schwankungen in der Quantität des gelösten Eiweiss im Verhältniss zum angewendeten zurückgeführt werden müssen. Die Menge des Fleisches war stets dieselbe — 2 Kilo — die Versuchsanordnung wie beim Fibrin unter Zusatz von 240 ccm. Natriumcarbonatlösung; von einer detaillirten Angabe der einzelnen Versuche kann daher wohl Abstand genommen werden.

Tabelle II. Fleischversuche.

| Nummer<br>des Versuches. | Dauer<br>der<br>Fäulniss. | In Lösung ge-<br>gangenes Eiweiss |  | Erhaltenes Indol |                                       | Bemerkungen.   |
|--------------------------|---------------------------|-----------------------------------|--|------------------|---------------------------------------|--|
|                          |                           | gr.                               | o/o<br>des ange-<br>wendeten<br>Eiweiss. | gr.              | o/oo<br>des<br>zersetzten<br>Eiweiss. |  |
| VI.                      | 2 Tage                    | 367,5                             | 92,0                                     | 1,190(?)         | 3,2 (?)                               | Zur Fäulnissmischung nur 120 ccm. Natriumcarbonatlösung zugesetzt. |
| VII.                     | 4 «                       | 366,4                             | 91,5                                     | 0,702            | 1,9                                   | Etwas Verlust.   |
| VIII.                    | 7 «                       | 368,7                             | 92,2                                     | 0,618            | 1,7                                   | —  |
| IX.                      | 8 «                       | 358,1                             | 89,5                                     | 0,820            | 2,3                                   | Zum grossen Theil Skatol   |
| X.                       | 8 «                       | 370,9                             | 92,7                                     | 0,900            | 2,4                                   | do.  |
| XI.                      | 8 «                       | 373,7                             | 93,5                                     | 0,864            | 2,3                                   | —  |
| XII.                     | 11 «                      | 370                               | 92,3                                     | 0,943            | 2,5                                   | —  |
| XIII.                    | 12 «                      | 366,4                             | 91,6                                     | 1,068            | 2,9                                   | Etwas Verlust.   |
| XIV.                     | 16 «                      | 370,9                             | 92,7                                     | 1,112            | 3,0                                   | —  |
| XV.                      | 70 «                      | 347,8                             | 86,5                                     | 2,016            | 5,8                                   | Bei gewöhnlicher Temperatur.—Indol stark skatolhaltig.             |

Die Menge des erhaltenen Indols ist, wie man sieht, erheblich geringer, wie beim Fibrin, sie beträgt durchschnittlich nur etwa  $\frac{1}{3}$ . Das Indol war ausserdem durchschnittlich nicht so rein, es sah öfters grünlich oder bräunlich aus. Sehr auffallend ist die aus der Reihe fallende höhere Zahl

für den Versuch VI von nur 2tägiger Dauer, möglicherweise steht dieselbe mit der geringeren Alkalisierung in Zusammenhang, doch müssten hierüber noch besondere Versuche angestellt werden.

### c) Versuche mit Fleischfibrin.

1. Unter Fleischfibrin verstehen wir hier die sogenannten Fleischrückstände, welche durch Auslaugen sorgfältig von Fett befreiten Fleisches mit kaltem, resp. lauwarmem Wasser, dann wiederholtes Auskochen mit Wasser, endlich erschöpfende Behandlung mit Alkohol und Aether dargestellt sind. Auf die Menge des gebildeten Indols ist nur in zwei Versuchen Rücksicht genommen, da das Fleischfibrin ursprünglich zu anderen Zwecken als Versuchsmaterial herangezogen ist.
2. Die Ermittlung des in dem angewendeten Fleischfibrin enthaltenen trockenen, aschefreien Eiweiss, sowie die Feststellung des in Lösung gegangenen Antheils geschah wie beim Fibrin. Dasselbe gilt auch für die Versuche mit Serumalbumin und Pankreaspepton.

#### Versuch VI. Dauer 10 Tage.

75 gr. Kaninchenfleischpulver = 64,7 gr. Eiweiss. 3 Liter Wasser, 9 gr. trockenes Natriumcarbonat, 1 gr.  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Gelöst 61,7 gr. = 92,30%.  
Indol 0,208 gr. = 3,40<sup>00</sup> des gelösten Eiweiss.

#### Versuch VII. Dauer 30 Tage.

150 gr. Pferdefleischpulver = 134 gr. Eiweiss. 3 Liter Wasser, 45 ccm. kaltgesättigte Lösung von Natriumcarbonat, 1 gr.  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Gelöst 125,8 gr. = 93,60%.  
Indol 0,350 gr. = 2,80<sup>00</sup> des gelösten Eiweiss.

Das «Indol» bestand zum grossen Theil aus Skatol. Es konnte aus dem Gemisch 0,1 gr. Skatol vom Schmelzpunkt 93° isolirt werden.

Auch bei Anwendung des gereinigten Eiweissmaterial des Fleisches bleibt die Menge des gebildeten Indol weit hinter der aus Fibrin erhaltenen zurück.

## d) Versuche mit Serumalbumin.

Zu den Versuchen diente käufliches, eingetrocknetes Blutserum, das in warmem Wasser gelöst wurde. Die äusseren Erscheinungen der Fäulniss waren wenig ausgeprägt. Dieses ist der Grund, warum die Versuche so lange fortgesetzt wurden. In allen Versuchen kamen 150 gr. = 118,95 gr. aschefreies Eiweiss, 3 Liter Wasser und 45 cbcm. kaltgesättigte Lösung von Natriumcarbonat in Anwendung. Die Versuche XIX und XX sind gleichzeitig angestellte Parallelversuche. Bei Versuch XIX wurde die Flasche, welche die Mischung enthielt, offen gelassen, bei Versuch XX durch ein Wasserventil geschlossen. Die weiteren Daten ergibt die weiter unten folgende Tabelle III.

## e) Versuche mit Pancreaspepton.

1. Unter Pancreaspepton verstehen wir in diesem Falle die durch Trypsin bewirkte, von unverändertem Eiweiss und dem gebildeten Tyrosin befreite Lösung von Fibrin incl. des durch die Trypsinwirkung entstandenen Leucin und der sonst aus dem Eiweiss hervorgangenen Produkte. Das Material ist also — wie man sieht — Eiweiss minus Tyrosin, oder wenigstens minus des grössten Theiles des in ihm enthaltenen Tyrosin. Der Versuch mit diesem Material ist ursprünglich nicht des Indols wegen angestellt — denn dass dieses nichts mit dem Tyrosin zu thun hat, ist längst festgestellt — sondern zu anderen Zwecken.
2. Zur Darstellung des zu den Versuchen benutzten Pancreaspeptons wurde Fibrin in Thymollösung von 1 % unter Zusatz von  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  bis zur stark alkalischen Reaktion mit zerhakter, frischer Pancreasdrüse, resp. dem wässerigen Auszug der in Alkohol gehärteten und dann gepulverten Drüse bei  $42\text{--}45^\circ$  in einem bedeckten Blechgefäss digerirt. Die Digestion dauerte für das Material des ersten Versuchs 9 Stunden, für das des zweiten 36 Stunden. Fäulnisserscheinungen traten dabei nicht auf. Die Flüssigkeit wurde alsdann unter Ansäuern mit Essigsäure auscoagu-

lirt, abfiltrirt, eingedampft und längere Zeit — einige Wochen — zur Ausscheidung des Tyrosins sich selbst überlassen. Der dickliche Brei wurde alsdann mit Wasser angerührt und filtrirt, in der Lösung Trockenrückstand und Aschengehalt bestimmt, der aschefreie Trockenrückstand als Eiweisssubstanz angesehen.

#### Versuch XXI. Dauer 7 Tage.

Angewendete aschefreie Trockensubstanz 180,5 gr. Gelöst 173 gr. = 95,80%. Diese Zahl ist indessen mit der bei den Eiweisskörpern erhaltenen nicht ohne Weiteres zu parallelisiren, da sich ein Theil des unzersetzten Peptons der Fällung durch Alkohol entzogen hat. Die Menge des zersetzten Eiweiss erscheint also etwas zu hoch, die relative Indolmenge zu niedrig.

Indol 1,050 gr. = 6,10/100.

#### Versuch XXII. Dauer 12 Tage.

Im Ganzen angewendete aschefreie Trockensubstanz 1094,8 gr. Diese Quantität wurde in zwei Antheilen der Fäulniss unterworfen. Da die äusseren Erscheinungen der Fäulniss wenig ausgeprägt waren, wurden zu jedem Antheil 20 gr. Kaliumnatriumtartrat zugefügt, eine grössere Intensität der Fäulnisserscheinungen indessen nicht damit erzielt.

Gelöst wurden 1058 gr. = 95,70% (bezüglich der Bedeutung dieser Zahl gilt dasselbe, wie für den Versuch XXI).

Indol 5,340 gr. = 5,00/100.

(Tabelle folgt auf nächster Seite.)

### V. Die Zusammensetzung des Fäulnissindols. — Vorkommen von Skatol.

Ehe wir an die weitere Verwerthung der bei den einzelnen Versuchen erhaltenen Resultate und an die Mittheilung der sonst noch über die Bildung des Indols angestellten Versuche gehen, müssen wir vor Allem nachweisen, dass die von uns als Indol angesehene Substanz auch wirklich Indol ist. Es handelt sich dabei um zwei Fragen:

1. Enthält das, was wir als Indol gewogen und bezeichnet haben, Skatol beigemischt?
2. Ist in dem Indol, bzw. Indol + Skatol noch irgend eine andere Substanz als Verunreinigung nachweisbar?

Tabelle III.

| Nummer<br>des Versuchs. | Dauer<br>der<br>Fäulniss. | Material.       | In Lösung ge-<br>gangenes Eiweiss<br>(trocken) |  | Erhaltenes Indol |  | Bemerkungen.   |
|-------------------------|---------------------------|-----------------|--|--|------------------|--|--|
|                         |                           |                 | gr.  | $\frac{0}{100}$<br>des ange-<br>wendeten<br>Eiweiss. | gr.              | $\frac{0}{100}$<br>des<br>gelösten<br>Eiweiss. |  |
| XVI.                    | 10 Tage                   | Fleischfibrin . | 61,7   | 92,3   | 0,208            | 3,4  | —  |
| XVII.                   | 30 «                      | Fleischfibrin . | 125,85   | 94,6   | 0,350            | 2,8  | Zum grossen Theil<br>Skatol.                                   |
| XVIII.                  | 37 «                      | Serumalbumin    | 104,4  | 87,0   | 0,433            | 4,1  | —  |
| IXX.                    | 39 «                      | Serumalbumin    | 105  | 88,1   | 0,374            | 3,6  | Offen.   |
| XX.                     | 39 «                      | Serumalbumin    | 104,5  | 87,0   | 0,526            | 5,0  | Geschlossen.   |
| XXI.                    | 7 «                       | Pancreaspepton  | 173  | 95,8   | 1,050            | 6,1  | Die Indolmenge ist<br>aus den erörterten<br>Gründen zu niedrig |
| XXII.                   | 12 «                      | Pancreaspepton  | 1058,8   | 95,7   | 5,340            | 5,0  |  |

Um mit der ersten einfacheren Frage zu beginnen, so zeigt eine flüchtige Durchsicht der Tabellen, dass an verschiedenen Stellen ein erheblicher Gehalt an Skatol notirt ist. Es sind dieses die an Fleisch angestellten Versuche IX, X und XV, sowie der an Fleischfibrin angestellte Versuch XVII. In allen diesen Fällen zeigte das «Indol» einen höheren Schmelzpunkt als  $52^{\circ}$  und die wässrige Lösung eine etwas abweichende Reaction mit Salpetersäure + Kaliumnitrit, resp.

verdünnter rauchender Salpetersäure; die Lösung wurde dadurch nicht roth, sondern röthlich-weiss gefärbt<sup>1)</sup>. In allen diesen Fällen gelang es auch leicht, reines Skatol in Substanz darzustellen.

In Versuch X wurde von dem Umstand Gebrauch gemacht, dass das Skatol mit Wasserdämpfen leichter flüchtig ist, wie das Indol. Das ursprünglich erhaltene Fäulnissdestillat wurde nochmals destillirt und das Destillat in einzelnen Antheilen aufgefangen. Das erste Destillat lieferte 0,056 gr. Skatol vom Schmelzpunkt 92°, das zweite 0,332 gr. Skatol mit wenig Indol vom Schmelzpunkt 82°, aus dem Rückstand wurde durch Ausschütteln mit Aether etc. 0,512 gr. skatolhaltiges Indol vom Schmelzpunkt 61° gewonnen (die in der Tabelle II angeführte Zahl 0,900 ist durch Addition dieser drei Antheile erhalten). Bei Versuch IX wurde das erhaltene Rohindol durch wiederholte Behandlung mit heissem Wasser zu trennen gesucht, in welchem das Skatol erheblich schwerer löslich ist, als das Indol. (Eine in dem Verhältniss 1:2000 heiss bereitete Lösung von reinem Skatol scheidet beim Erkalten noch ein wenig Skatol krystallinisch ab.) Es wurden so erhalten 0,451 gr. indolhaltiges Skatol vom Schmelzpunkt 88° und 0,369 gr. Indol vom Schmelzpunkt 50°.

<sup>1)</sup> Noch deutlicher lässt sich in solchen Fällen, in denen ein irgend erheblicher Bruchtheil Skatol ist, dieses nachweisen, indem man wenige Cubiccentimeter der gemeinschaftlichen Lösung beider Substanzen der Destillation unterwirft. Die ersten Tropfen des Destillates geben dann eine weit deutlichere Skatolreaction. Als 10 ccm. einer Lösung, welche 2 mgr. Skatol neben 8 mgr. Indol enthielt, in einem kleinen Siedekölbchen destillirt wurden, waren die ersten Tropfen des Destillats milchig-trüb, alsbald schieden sich perlmutterglänzende Blättchen ab, und die Lösung gab starke Reaction mit  $\text{NO}_3\text{H}$  und  $\text{KNO}_2$ . Was die Feinheit der gebräuchlichen Skatolreaction betrifft, so giebt eine Lösung von 1:10000 noch eine schwache, aber deutliche, sofort auftretende Trübung mit  $\text{NO}_3\text{H}$  und  $\text{KNO}_2$  oder verdünnter rauchender Salpetersäure.

Die von Legal (Breslauer ärztliche Zeitschrift 1883, Nr. 3 und 4) für das Indol angegebene Reaction mit Nitroprussidnatrium und Natronlauge giebt das Skatol nicht. Skatol lässt sich durch diese Reaction also auf etwaige Beimengungen von Indol untersuchen. Es giebt indessen gleichfalls eine Farbenreaction mit Nitroprussidnatrium (siehe weiter unten beim Indol).

Auf demselben Wege wurde aus 0,350 gr. skatolhaltigem Indol, das aus dem Versuch XVII mit Fleischfibrin stammte, 0,1 gr. Skatol vom Schmelzpunkt  $93^{\circ}$  isolirt. Es gelingt also mittels dieses einfachen, wiewohl ziemlich mühsamen Verfahrens aus skatolreichem Indol verhältnissmässig grosse Antheile Skatol rein zu gewinnen, eine glatte quantitative Trennung in Indol und Skatol vom richtigen Schmelzpunkt ist selbstverständlich mittelst desselben nicht möglich.

Das erhaltene Indol bestand also in einigen Fällen allerdings zu einem erheblichen Bruchtheil aus Skatol, in allen anderen Versuchen war dieses nicht der Fall, indessen schliesst das negative Ergebniss der in der oben erörterten Weise vorgenommenen Prüfung kleine Mengen Skatol nicht aus, ebensowenig die Uebereinstimmung des Schmelzpunktes mit dem des Indols, da der Schmelzpunkt durch Spuren von aus dem Aether zurückbleibenden Verunreinigungen leicht um einige Grade herabgedrückt werden kann. Es war also nothwendig, noch ein anderes Verfahren zur Prüfung anzuwenden. Hierzu ist keines besser geeignet, als die von Baeyer<sup>1)</sup> zur Darstellung des Skatols aus Indigo angegebene Destillation der Pikrinsäureverbindung mit Natronlauge.

Die Untersuchung wurde zuerst an dem in Versuch III erhaltenen Indol vorgenommen, welches aus fünf Einzelversuchen stammte. Dasselbe wurde, ohne dass sein Gewicht vorher bestimmt war, in Ligroin gelöst und mit einer Lösung von Pikrinsäure in Benzol gefällt. Leider fand hierbei ein Verlust statt, der nach ziemlich sicheren Indicien auf 10% zu veranschlagen ist. Der Niederschlag wog nach dem Trocknen über Schwefelsäure 40,2 gr.

Die pikrinsäurehaltige Ligroinmutterlauge gab nach dem Verdunsten des Ligroins und Destilliren des Rückstandes mit Natronlauge eine sehr kleine Menge Skatol.

Die erhaltene Pikrinsäureverbindung selbst lieferte beim Umkrystallisiren aus heissem Benzol:

34 gr. erste Krystallisation

4,7 gr. zweite Krystallisation,

zusammen also 38,7 gr. gut krystallisirte Pikrinsäureverbindung.

<sup>1)</sup> Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XIII, S. 2339.

Die Benzolmutterlauge gab nach Verdunstung des Benzols beim Destilliren mit Ammoniak wiederum eine sehr geringe Menge indolhaltiges Skatol vom Schmelzpunkt  $90^{\circ}$ .

Es konnten nun noch die Pikrinsäureverbindungen selbst neben Indol Skatol enthalten:

1. 0,947 gr. Pikrinsäureverbindung von Krystallisation I gab mit 13,7 ccm. Normalnatron destillirt, zuerst 0,0325 gr. Skatol vom Schmelzpunkt  $91^{\circ}$ , das Filtrat noch 0,0206 gr. Pikrat = 0,0075 gr. Skatol, zusammen also 0,04 gr. Skatol, was im Ganzen für die Krystallisation I 1,436 gr. Skatol ergibt.
2. 1,061 gr. Pikrinsäureverbindung von Krystallisation II gab mit 15,3 ccm. Normalnatron destillirt, direkt 0,055 gr. Skatol vom Schmelzpunkt  $90^{\circ}$  im Destillat ausgeschieden. Das Filtrat lieferte nach Zusatz von Pikrinsäurelösung noch 0,0380 gr. Picrinsäureverbindung = 0,014 gr. Skatol, also zusammen 0,069 gr. Skatol. Für die ganze Krystallisation II berechnet sich daraus 0,306 gr. Skatol.

In beiden Krystallisationen zusammen würde sich demnach 1,742 gr. Skatol befinden = 11,6%.

In etwas abgekürzter Form wurde dann noch das Indol aus den Versuchen I, IV, V und Va (alle aus Fibrin), XII (Fleisch) und XXII (aus Pancreaspepton) untersucht.

Das Verfahren war folgendes:

Eine abgewogene Menge des Indols — meistens circa 0,5 gr. — wurde im Becherglas durch Aufgiessen einiger Tropfen Benzol gelöst, dann das  $\frac{5}{4}$ — $1\frac{1}{2}$  fache der berechneten Menge Pikrinsäure in Substanz zugeschüttet und unter Erhitzung des mit einem Uhrglase bedeckten Becherglas soviel Benzol zugesetzt, dass sich alles löste, wozu nur sehr wenig erforderlich: beim Erkalten erstarrte die Lösung zu einem Brei prächtig rother Nadeln. Nach dem Erkalten wurde zur völligen Abscheidung der Picrinsäureverbindung etwa das doppelte Volumen Petroleumäther zugesetzt, gut durchgerührt, nach 24 Stunden abfiltrirt, der Niederschlag möglichst vollständig auf's Filter gebracht, mit Petroleumäther nachgewaschen und durch 24stündiges Liegenlassen von anhängendem Benzol und Petroleumäther befreit, dann mit verdünnter Natronlauge destillirt. Man muss sich dabei hüten, zum Hineinspülen des Niederschlages in den Destillationskolben

heisses Wasser anzuwenden: es kann dann bei der nachfolgenden Destillation leicht unzersetztes Indol übergehen<sup>1)</sup>).

Das Resultat war folgendes:

1. 0,4702 gr. Indol des Versuchs I von 4 tägiger Dauer (Fibrin).

Das Destillat war klar, gab keine Skatolreaction, sondern leicht röthliche Trübung, Skatol in Blättchen nicht vorhanden. Resultat: Skatol nicht bestimmt nachweisbar. — Ein zweiter Versuch mit 0,3007 gr. Indol gab dasselbe Resultat.

2. 0,514 gr. Indol aus Versuch IV von 13 tägiger Dauer (Fibrin).

Das Destillat enthielt reichlich Blättchen vom Ansehen des Skatols. Gewicht nach dem Trocknen über  $\text{SO}_4\text{H}_2$  0,0065 gr. Schmelzpunkt  $93^\circ$ . Das Filtrat von festem Skatol giebt starke Reaction. — Ein zweiter Versuch mit 0,602 gr. desselben Indols bestätigte das obige Resultat.

3. 0,5146 gr. Indol aus Versuch V von 26 tägiger Dauer (Fibrin).

Das Destillat enthielt äusserst spärliche Blättchen vom Verhalten des Skatols. Das Filtrat giebt starke Skatolreaction. Durch Ausschütteln mit Aether wird jedoch nur ein minimaler Rückstand erhalten. — Ein zweiter Versuch mit 0,387 gr. gab das gleiche Resultat.

4. 0,55 gr. Indol aus Versuch V<sup>a</sup> von 38 tägiger Dauer (Fibrin).

Das Destillat enthielt keine Blättchen, gab mit  $\text{NO}_3\text{H}$  und  $\text{KNO}_2$  schwache röthlich-weiße Trübung.

5. 0,449 gr. Indol aus Versuch XIII von 11 tägiger Dauer (Fleisch).

Das Destillat enthielt äusserst spärliche Blättchen vom Verhalten des Skatols. Das Filtrat giebt Skatolreaction. Resultat: sehr geringer Skatolgehalt.

6. 0,6196 gr. vom Versuch XXIII von 12 tägiger Dauer (Pancreaspepton).

Das Destillat enthält keine Blättchen. Skatolgehalt des Destillats bleibt zweifelhaft.

1) Erhitzt man die Pikrinsäureverbindung mit Wasser zum Sieden, so geht reichlich Indol über; unterbricht man die Destillation und setzt nunmehr Natronlauge hinzu, selbst starke Natronlauge und reichlich, so geht bei weiterer Destillation trotzdem Indol über. Die Natronlauge wirkt merkwürdiger Weise nur auf das in der Pikrinsäureverbindung enthaltene Indol zerstörend ein, auf freies nicht oder doch sehr wenig.

Auch bei sorgfältigem Arbeiten kommt es indessen mitunter vor, dass im Destillat Indol auftritt, namentlich gegen Ende der Destillation und auch wohl im Anfang; es empfiehlt sich daher, das Destillat in einzelnen Antheilen aufzufangen.

Von allen untersuchten Indolen ist keines unzweifelhaft frei von Skatol, am ehesten noch das aus Fibrin erhaltene in Versuch I und Va. Der Skatolgehalt schwankt in weiten Grenzen, vom eben nachweisbaren, bis zu 11,6%, ja in vereinzelten Fällen besteht das «Indol» zum grossen, vielleicht grössten Theile aus Skatol. Diese Fälle von hohem Skatolgehalt betreffen jedoch ausschliesslich das aus der Fäulniss von Fleisch oder Fleischrückständen erhaltene Indol. Nur ein Fall von 11,6 % Skatolgehalt des Indols betrifft das Fibrin. Andererseits liefert das Fleisch keineswegs stets so stark skatolhaltiges Indol, im Gegentheil: die Regel ist ein geringer Skatolgehalt, der nur schwierig nachweisbar ist. Die Ursache dieser Erscheinung haben wir nicht ermitteln können, anscheinend ganz gleichförmig angeordnete und gleichmässig verlaufende Versuche lieferten das eine Mal eine erhebliche Quantität Skatol, das andere Mal nichts oder Spuren. Bei dieser Sachlage bleibt kaum eine andere Annahme übrig, als die schon in unserer ersten Mittheilung <sup>1)</sup> ausgesprochene, dass die Ursache eine nur mikroskopisch erkennbare ist, der verschiedene Verlauf durch Verschiedenheiten in der Natur der Bakterien verursacht wird. Wir erinnern an den Aethyl- und Butylpilz von Fitz<sup>2)</sup>, von denen der erstere aus Glycerin fast immer Aethylalkohol, der letztere Butylalkohol liefert. Die Bildung homologer Substanzen derselben Reihe aus demselben der Gährung unterliegenden Material ist in der That eine häufige Erscheinung. Sehr bemerkenswerth und in Uebereinstimmung mit dieser Anschauung ist, dass in den Fällen reichlicher Skatolbildung die Summe von Indol und Skatol dem sonst erhaltenen Indol entsprach oder mit anderen Worten, dass bei reichlicher Skatolbildung das Indol an Menge entsprechend zurücktrat. Man muss annehmen, dass der supponirte «Indolpilz» an Menge in der Regel sehr bedeutend überwiegt und ihm nur ausnahmsweise eine grössere Quantität «Skatolpilze» beigemischt sind. Durch besonders darauf ge-

<sup>1)</sup> Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XII, S. 648.

<sup>2)</sup> Ebendasselbst, Bd XI, S. 42.

richtete Versuche würde es vielleicht gelingen, den supponirten Skatolpilz rein zu züchten und damit reine Skatolgährung hervorzurufen. Dass in unseren Versuchen eine reichlichere Skatolbildung nur bei Verwendung von Fleisch erzielt werden konnte, würde dann leicht seine Erklärung in der Annahme finden, dass die Fleischflüssigkeit für die Ernährung des Skatolpilzes günstigere Bedingungen bietet, wie die aus der Lösung des Fibrins hervorgehende Flüssigkeit.

Vergleichen wir mit unseren Erfahrungen die bisherigen Angaben über das Auftreten des Skatols, so begegnen wir einem eigenthümlichen Schwanken in den Angaben. Nachdem Brieger<sup>1)</sup> in Nencki's Laboratorium das Skatol in den Fæces entdeckt hatte, richteten sich naturgemäss die Bestrebungen darauf, dasselbe auch ausserhalb des Körpers durch Fäulniss aus Eiweiss darzustellen, Bestrebungen, die umso mehr Erfolg zu versprechen schienen, als Nencki und Sécretan schon vor der Entdeckung des Skatols einen neuen indolartigen Körper, welcher der Hauptsache nach unzweifelhaft Skatol war, aus Eier- und Muskeleiweiss durch langdauernde Fäulniss bei gewöhnlicher Temperatur erhalten hatten. Allein zahlreiche bei Brutwärme mit den verschiedensten Eiweisskörpern angestellte Versuche lieferten Brieger<sup>2)</sup> niemals Skatol. Zum ersten Mal wurde Skatol von Nencki<sup>3)</sup> aus einem Gemisch von Pankreas und Muskelfleisch erhalten, welches fast fünf Monate bei gewöhnlicher Temperatur gefault hatte (2230 gr. Pancreas und 500 gr. Muskelfleisch lieferten 0,31 gr. reines Skatol).

Nachdem wir dann<sup>4)</sup> in zwei Versuchen mit je 2 kg. Fleisch verhältnissmässig grosse Mengen Skatol durch kurzdauernde Fäulniss bei Brutwärme erhalten hatten, beschrieb etwas später Brieger<sup>5)</sup> die Gewinnung des Skatols durch Fäulniss aus Serumalbumin: 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> kg. Serumalbumin lieferten ihm etwa

<sup>1)</sup> Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. X, S. 1027.

<sup>1)</sup> Journal für praktische Chemie. N. F. Bd. 17, S. 124.

<sup>3)</sup> Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften 1878, Nr. 47.

<sup>4)</sup> Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XII, S. 648.

<sup>5)</sup> Ebendasselbst, Bd. XII, S. 1985.

1 gr. Skatol (etwa 0,5‰ bezogen auf reine Eiweisssubstanz). Da auch in diesem Fall die Versuchsanordnung keine andere war, wie früher, so wird man wohl nicht fehlgehen, wenn man die Auffindung desselben der grösseren Quantität des angewendeten Materials und der von Brieger angewendeten Untersuchungsmethode zur Trennung des Indols und Skatols zuschreibt. Später erhielt Brieger<sup>1)</sup> auch aus «Fibrin, Eiereiweiss, Leber nach 5 tägiger Fäulniss Spuren von Skatol, aus  $\frac{1}{2}$  kg. nassem Casein 4 mgr. Skatol». Brieger sieht danach das Skatol als constantes Produkt der Fäulniss an, unsere Anschauung hierüber geht aus den vorstehenden Erörterungen hervor: wir sind der Ansicht, dass Skatol und Indol sich vertreten können, in dem Eiweissmolekül nicht ein bestimmter Bruchtheil als Skatol, ein bestimmter als Indol präformirt ist, sondern beide aus einer gemeinsamen im Eiweiss präformirten Muttersubstanz stammen, welche je nach Umständen bald vorwiegend Indol, bald vorwiegend Skatol liefert, so zwar, dass das freie Skatol fast ganz fehlen kann. Auf die Frage, inwieweit eine dieser Substanzen oder beide in Beziehung stehen zur Skatolcarbon-säure, ob auch diese gewissermassen vicariirend für einen geringen Gehalt an freiem Skatol eintreten kann, werden wir bei Gelegenheit der Besprechung dieser Säure näher eingehen.

Was die zweite Frage betrifft, ob ausser dem Indol, resp. Indol und Skatol noch andere Substanzen in dem Verdampfungsrückstande des Aethers vorhanden seien, so glaubten wir diese Frage am besten dadurch beantworten zu können, dass wir die Menge des in dem Rückstand enthaltenen Indols quantitativ bestimmten. Zur quantitativen Bestimmung des Indols in unseren Rückständen schien uns keine Verbindung mehr geeignet, als die mit Pikrinsäure: sie ist gut krystallisirbar, bietet also Garantien für Reinheit und ist unter bestimmten Verhältnissen sehr schwer löslich. Streng genommen, ist diese Art der Bestimmung aber nur für den Fall anwendbar, dass das Indol frei ist von Skatol.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. IV, S. 415.

Dass dieses auch eine Verbindung mit Pikrinsäure eingeht, ist an sich der Bestimmung nicht hinderlich, da es für den vorliegenden Zweck ja gleichgültig ist, ob es sich um Indol oder Skatol handelt, die Verschiedenheit der Molekulargewichte beider Substanzen macht aber die Berechnung unsicher. Ein Ausweg wäre freilich in der Bestimmung des Pikrinsäuregehaltes des gewogenen Niederschlages gegeben. Man könnte danach berechnen, wieviel des Niederschlages aus Pikrinsäure-Skatol, wieviel aus Pikrinsäure-Indol besteht. Indessen, wenn sich diese Bestimmung auch durch Ueberführung der Pikrinsäure in pikrinsaures Ammoniak mit bemerkenswerther Schärfe ausführen lässt, so liegen die Molekulargewichte des Indols und Skatols, resp. ihrer Pikrate doch zu nahe aneinander, um eine Berechnung auf dem Wege der indirekten Analyse zuzulassen. Aus folgendem Beispiel geht dieses deutlich hervor.

Reines pikrinsaures Indol müsste der Berechnung nach 71,10 % seines Gewichtes pikrinsaures Ammoniak geben, reines pikrinsaures Skatol 68,33%. Die Krystallisation I des Versuches III, welche 11,6 % pikrinsaures Skatol enthält, musste der Rechnung nach 70,78 %, die Krystallisation II mit 17,9 % pikrinsaurem Skatol 70,60 % pikrinsaures Ammoniak geben. Das sind Zahlen, die sowohl unter sich, als auch von der für reines pikrinsaures Indol viel zu wenig differiren, um darauf eine sichere Berechnung des Skatolgehaltes zu gründen. Wir haben uns deshalb auf solche «Indole» beschränken müssen, die kein Skatol enthalten, oder doch sehr wenig.

Auch diese Bestimmung wurde in Benzollösung ausgeführt, nachdem einige Versuche in wässerigen Lösungen zu arbeiten, an der zu grossen Löslichkeit der Pikrinsäureverbindung in Wasser gescheitert waren<sup>1)</sup>.

1. 0,3007 gr. Indol aus Versuch I (Fibrin 4 Tage) wurde in kochendem (hochsiedendem) Ligroin gelöst, andernteils 0,6250 gr. Picrinsäure (ein wenig über die theoretische Menge) in siedendem Benzol, beide

---

<sup>1)</sup> Nach einer bei Zimmertemperatur ausgeführten Bestimmung lösen 100 Theile Wasser 0,169 Theile Picrinsäureindol oder 1 Theil des letzteren löst sich in 590 Theile Wasser.

Lösungen gemischt. Das beim Erkalten in prächtig rothen Nadeln ausfallende Pikrinsäureindol wog, über  $\text{SO}_4\text{H}_2$  bis zum constanten Gewicht getrocknet, 0,8633 gr.

Das Filtrat gab auf Zusatz einer kleinen Menge Pikrinsäure auf's Neue einen geringen Niederschlag, der nach dem Abfiltriren aus Benzol umkrystallisirt wurde, da ihm einzelne Krystalle von Pikrinsäure beigemischt waren. Nach dem Trocknen wog derselbe 0,0110 gr., zusammen wurde also erhalten 0,8743 gr. Pikrat, entsprechend 0,2955 gr. Indol = **98,33**%.  
 2. 0,7031 gr. Indol aus Versuch VI (Fibrin 26 Tage) lieferte:  
 2,0609 gr. Pikrat = 0,6970 gr. Indol = **99,13**%.  
 3. 0,4419 gr. Indol aus Versuch XII (Fleisch 11 Tage) lieferte:  
 1,2842 gr. Pikrat = 0,4336 gr. Indol = **98,12**%.  
 4. 0,4509 gr. Indol aus Versuch XXII (Pancreaspepton 12 Tage) lieferte:  
 1,3100 gr. Pikrat = 0,4430 gr. Indol = **98,25**%.

Der Gehalt ist in allen Fällen so hoch, dass wir es für unnöthig erachtet haben, die für das Indol enthaltenen Zahlen nach Massgabe dieser Bestimmungen auf reines Indol umzurechnen, umsomehr als dieselben jedenfalls Minimalwerthe darstellen.

Was die bei diesen Bestimmungen angewendete Quantität Pikrinsäure betrifft, so sei noch bemerkt, dass in der Regel etwa  $\frac{1}{10}$  der auf reines Indol berechneten Menge angewendet wurden. Mitunter genügte dieser Zusatz nicht zur vollständigen Fällung, das Filtrat wurde dann mit einer weiteren kleinen Quantität Pikrinsäure versetzt. Ein oder das andere Mal kommt es auch vor, dass die Fällung trotz aller Vorsicht Blättchen von Pikrinsäure enthält, sie wird dann aus Benzol umkrystallisirt.

**VI. Die Mengenverhältnisse des Indols.**

### 1. Vorbemerkungen über den Nachweis des Indols.

Ueber die Constatirung des Indols in unseren Versuchen, in denen es bereits in fast vollkommener Reinheit vorlag, ist kaum etwas zu sagen. Wir haben hierzu die von Baeyer angegebene Reaction mit salpetriger Säure für ausreichend erachtet. Was die Art der Anstellung der Reaction betrifft, so finden wir es am bequemsten, die wässrige Lösung, welche man prüfen will, zuerst mit einigen Tropfen reiner Salpetersäure und alsdann tropfenweise mit einer schwachen,

etwa 2 procentigen, Lösung von Kaliumnitrit zu versetzen. Salpetersäure ist der Salzsäure entschieden vorzuziehen. Benutzt man rauchende Salpetersäure, so muss man sie jedesmal kurz vor dem Gebrauch mit Wasser verdünnen, die Anwendung von Salpetersäure + Kaliumnitrit erscheint uns bequemer.

Ist die Lösung so verdünnt, dass nur eine Rothfärbung, aber kein Niederschlag entsteht, wie bei einer Verdünnung von 1:10000, so kann man diese kleinsten Mengen noch zur Ausscheidung bringen, wenn man die Probe im Reagensglas mit Chloroform schüttelt: es bildet sich dann an dem Berührungsgrenze des Chloroforms mit der wässerigen Flüssigkeit ein röthliches Häutchen, während die Flüssigkeit selbst, sowie das Chloroform ungefärbt erscheinen.

Die Gegenwart mässiger Mengen Phenol stört die Reaction nicht, auch bei grossem Gehalt an Skatol ist die Reaction ausreichend, ja schon ein geringer Indolgehalt in Skatol macht sich durch die röthliche Färbung der Trübung bemerkbar.

Eine Verwechslung kann unter den hier in Betracht kommenden Verhältnissen wohl nur mit Skatolcarbonsäure vorkommen, welche eine ganz ähnliche Reaction zeigt. Diese Verwechslung ist aber ausgeschlossen, wenn man, wie allgemein üblich, die auf Indol zu prüfende Flüssigkeit vorher destillirt, da Skatolcarbonsäure mit Wasserdämpfen nicht flüchtig ist.

Auf die Unterscheidung von dem mit reiner Salpetersäure reagirenden Körper sind wir oben schon eingegangen. Ist Indol gleichzeitig mit diesem Körper vorhanden, so färbt sich die Lösung bei Zusatz reiner Salpetersäure violett und bei nachfolgendem Zusatz von Kaliumnitrit entsteht dann ein rother Niederschlag.

Sehr brauchbar ist auch die von Legal<sup>1)</sup> für das Indol angegebene Reaction mit Nitroprussidnatrium und Natronlauge. Versetzt man eine Indollösung 1:1000 mit Nitroprussidnatriumlösung bis zur gelblichen Färbung, als-

<sup>1)</sup> Breslauer ärztliche Zeitschrift für 1884, Nr. 3 und 4.

dann mit einigen Tropfen Natronlauge, so färbt sie sich momentan tief violett-blau. Beim Ansäuern mit Salzsäure oder Essigsäure geht diese Färbung sofort in reinblau über. Diese Erweiterung der Reaction ist von Werth für stärker verdünnte Indollösungen, sowie für den Nachweis von Indolbeimengung in Skatol. Eine Lösung von 1 : 10 000 giebt mit Nitroprussidnatrium und Natronlauge zunächst nur ziemlich schwache violette Färbung, mit Salzsäure gesättigte Blaufärbung; auch mit Lösungen von 1 : 100 000 ist oft noch wenigstens andeutungsweise die Reaction zu erhalten. Skatol zeigt diese Reaction nicht, dagegen eine etwas abweichende, gleichfalls mit Nitroprussidnatrium anzustellende Reaction. Die mit Nitroprussidnatrium versetzte Lösung desselben wird auf Zusatz von Natron intensiv gelb; versetzt man die Lösung dann mit  $\frac{1}{4}$  Volum Eisessig, erhitzt zum Sieden und erhält einige Minuten darin, so färbt sich die Flüssigkeit allmählig violett. Die Intensität der Färbung nimmt beim Stehen noch etwas zu, ist jedoch nicht erheblich. Beim Durchschütteln mit Essigäther geht der Farbstoff in diesen über. Die Reaction ist von Interesse wegen der Bildung von Farbstoff aus Skatol.

## 2. Constanz der Indolbildung.

In keinem unserer Versuche wurde Indol vermisst; damit stimmen auch die Angaben der Autoren mit sehr wenigen Ausnahmen überein.

In einem Gemisch von 2330 gr. Pancreas und 500 gr. Muskeln, welches fast fünf Monate bei gewöhnlicher Temperatur faulte, beobachtete Nencki<sup>1)</sup> kein Indol, sondern nur Skatol, in einem ähnlichen Gemisch nach drei Monaten nur eine minimale Menge Indol. Wir fanden in einem Fäulnissgemisch, nach 70 Tagen Fäulniss bei gewöhnlicher Temperatur sehr ansehnliche Mengen Indol, in einem anderen Versuch von 100 Tagen Dauer das Indol zwar stark vermindert, aber doch immer noch in beträchtlicher Menge vorhanden. In dem Fall von Nencki ist möglicherweise in einem früheren Stadium gleichfalls Indol vorhanden gewesen.

1) Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften 1888, Nr. 47.

2) Diese Zeitschrift, Bd. IV, S. 371.

Die zweite Ausnahme betrifft das Rindergehirn, welches Nencki<sup>1)</sup> schon in wenigen Tagen reines Skatol lieferte. In diesem Fall kann die Ausnahme durch die Natur des Materials bedingt sein, dessen Eiweisskörper in manchen Beziehungen von den gewöhnlichen abweichen, vielleicht ist auch die niedrigere Temperatur zwischen 35 und 40° der Entwicklung der supponirten Skatolpilze besonders günstig.

Trotz dieser Ausnahmen wird man das Indol als ein constantes Produkt der Eiweissfäulniss betrachten müssen, das in der faulenden Flüssigkeit mindestens monatelang nachweisbar bleibt, wenn nicht besondere, die Verflüchtigung oder Oxydation des Indols begünstigende Verhältnisse bestehen. Welchen Einfluss diese beiden Momente auf die Quantität des Indols haben, soll später besprochen werden.

### 3. Zeit des Auftretens.

Unter Verwendung von in hohem Grade fäulnissfähigem Material — Fleisch — und Impfung mit Bacterien haben wir schon nach zwei Tagen ansehnliche Mengen von Indol darstellen können. Dasselbe gilt für Blutfibrin. Nachweisbar ist das Indol schon weit früher, Bruttemperatur und alkalische Reaction vorausgesetzt. Sehr frühzeitige Bildung von Indol zeigt sich auch in Gemischen von frischer Pankreasdrüse mit frischem Fleisch bei alkalischer Reaction. Indessen darf man doch nicht überall Indol annehmen, sobald eine solche Mischung übelen Geruch zeigt. Es ist in diesem Zeitpunkt oft noch kein Indol nachweisbar. Dies liegt schwerlich an der ungenügenden Feinheit der Reactionen, an dem Fäulnissgeruch sind vielmehr ganz wesentlich die spurenweise auftretenden mercaptanartigen, äusserst flüchtigen Substanzen betheiligt. Der Bildung des Indols geht die Bildung der mit reiner Salpetersäure sich roth färbenden flüchtigen Substanz voran, die sich auch constant in den Fæces findet, deren Betheiligung am Fäulnissgeruch jedoch zweifelhaft bleibt. Keineswegs also kann man jede bacteritische Eiweisszersetzung ausschliessen, wenn der Indolnachweis nicht gelingt, namentlich nicht, wenn man das Fäulnissdestillat direkt auf Indol

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. IV, S. 371.

prüft; oft gelingt es in solchen Fällen nach dem Ausschütteln mit Aether im Verdampfungsrückstand Indolreaction zu erhalten, wo das ursprüngliche Destillat sie nicht zeigt. Man kann nur sagen: in Flüssigkeiten oder Gemischen, welche nach 24 Stunden kein nachweisbares Indol enthalten, findet eine wesentliche bacteritische Eiweisszersetzung nicht statt. Dass der umgekehrte Schluss von der Gegenwart des Indols auf das Vorhandensein bacteritischer Eiweisszersetzung unbedingt beweisend ist, braucht kaum bemerkt zu werden. Mit diesen Anschauungen, die im Wesentlichen wohl mit den bisher geläufigen übereinstimmen, stehen nur die Angaben über zwei Versuche von Brieger<sup>1)</sup>, die sich auf Fibrin beziehen, in einem gewissen Widerspruch.

In dem ersten der beiden Versuche waren gemischt 166 gr. nasses Fibrin, 100 gr. «Pankeschlamm» als Impfmaterial und 3 Liter Wasser, in der zweiten 200 gr. Fibrin, je 100 gr. Pankreas und Pankeschlamm, 3 Liter Wasser. In der ersten Mischung war nach sechs Tagen kein Indol nachweisbar, wohl aber Phenol, in der zweiten nach vier Tagen gleichfalls Phenol und kein Indol. Brieger schliesst aus diesen Versuchen, dass Phenol auftreten kann, ohne dass es zur Indolbildung kommt und dass die «Natur des Fermentes von ausschlaggebendem Einfluss» sei.

Man kann freilich einige Bedenken gegen diese Versuche erheben: es handelt sich in beiden Fällen doch um recht kleine Mengen Eiweiss, welche vielleicht auch keinen sehr lebhaften Zersetzungen unterlagen und unter diesen Umständen auch nur wenig Indol liefern konnten. Kleine Mengen Indol werden aber in Flüssigkeiten, die sehr reich sind an suspendirten Stoffen, wie die vorliegenden, oft ungewöhnlich hartnäckig festgehalten, sodass sie bei der einfachen Destillation nicht ohne Weiteres übergehen.

Es ist indessen auch möglich, dass Brieger mit seiner Anschauung Recht hat. Sehen wir doch im Beginn der Fäulniss, obwohl Eiweisspaltung schon unzweifelhaft vorhanden, kein Indol auftreten; es ist also wohl auch denkbar,

---

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. III, S. 134.

dass es Bacterienformen giebt, welche überhaupt nicht im Stande sind, das Zwischenprodukt zu spalten, das wir unter allen Umständen zwischen dem Eiweiss, bezw. Pepton und dem Indol annehmen müssen (vgl. hierüber den folgenden Abschnitt VII). Fraglich bleibt nur, ob es zweckmässig ist, die nicht zur Indolbildung führenden Gährungen noch zur Fäulniss zu rechnen<sup>1)</sup>.

#### 4. Menge des Indols.

In unseren Versuchen lieferte:

1. Fibrin 7,2—11,5<sup>0</sup>/<sub>100</sub>.
2. Eiweisskörper des Fleisches 1,7—3,2<sup>0</sup>/<sub>100</sub> (bei einem Versuch in der Kälte 5,8<sup>0</sup>/<sub>100</sub>).
3. Die in Wasser unlöslichen Eiweisskörper des Fleisches 2,8<sup>0</sup>/<sub>100</sub>.
4. Das Serumeiweiss 3,6—5,0<sup>0</sup>/<sub>100</sub>.
5. Das Pankreaspepton 5,0—6,1<sup>0</sup>/<sub>100</sub> (wahrscheinlich etwas zu niedrig).

Diese Ausbeuten sind höher, als die bisherigen Angaben erwarten liessen, zum Theil sehr erheblich höher. Angaben, die einen direkten Vergleich mit den unserigen zulassen, liegen freilich nur in spärlicher Anzahl vor.

Aus Serumeiweiss erhielt Nencki<sup>2)</sup> im Maximum 0,5<sup>0</sup>/<sub>100</sub>, was mit unserem Befund übereinstimmt, allerdings hat Nencki ausser Serumalbumin noch Pankreas angewendet.

Die ausführlichsten Angaben hat Odermatt<sup>3)</sup> gemacht. Nach seinen Versuchen lieferte, bezogen auf wasserfreies Eiweiss:

1. Blutfibrin 1,2—1,75<sup>0</sup>/<sub>100</sub>.
2. Die Eiweisskörper des Fleisches 1,19<sup>0</sup>/<sub>100</sub>.
3. Serumalbumin 0,58—1,53<sup>0</sup>/<sub>100</sub>.

Sämmtliche Zahlen bleiben sehr erheblich hinter den von uns gefundenen zurück. Die Vergleichung wird aller-

---

1) Die Einführung des Sumpfschlammes, eines Gemisches von ganz unbekannter Zusammensetzung, als Erreger bacteritischer Eiweisszersetzung scheint uns überhaupt kein glücklicher Griff zu sein, so energisch derselbe auch auf Cellulose wirken mag. Die Versuche werden dadurch unnöthiger Weise complicirt und eine Reihe nicht übersehbarer Bedingungen in dieselbe eingeführt. Die Impfung mit einer kleinen Menge faulender Fleischflüssigkeit ist ungleich reinlicher; sie hat auch vor dem Zusatz von Pankreas den grossen Vorzug, dass die Produkte der Fäulniss des Impfmateriäls gleich Null gesetzt werden können.

2) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. VIII, S. 722.

3) Journal für praktische Chemie, N. F., Bd. 18, S. 249.

dings dadurch etwas erschwert, dass Odermatt keine Angaben über die Quantität des ungelösten Rückstandes gemacht hat<sup>1)</sup>.

Die Ursachen dieser Abweichungen können in verschiedenen Verhältnissen gesucht werden. Dass die Fäulnisszersetzung eine um so viel schwächere gewesen sei, wie in unseren Versuchen ist kaum anzunehmen, wenn auch in den Versuchen von Odermatt ein die Fäulniss begünstigender Faktor, die Gegenwart einer grösseren Menge von kohlensaurem Alkali fehlt. — Die Versuchsanordnung von Odermatt unterscheidet sich aber von der unserigen sehr wesentlich dadurch, dass Odermatt offene Gefässe angewendet hat, aus denen Indol in grösserer Menge entweichen konnte, wir dagegen einen Kolben, resp. Flaschen, die nur an den ersten Tagen locker, später vollständig oder fast vollständig verschlossen wurden. Man könnte auch den Grund in den verschiedenen zur Bestimmung des Indols angewendeten Methoden suchen. Odermatt hat das Indol als salpetersaures Nitrosoindol ausgefällt und dieses gewogen: ein Nachweiss, dass diese Ausfällung quantitativ erfolgt, ist unseres Wissens nicht geführt.

Endlich liegen noch einige quantitative Angaben von Brieger vor (l. cit., S. 142). Aus 5 kg. Pferdeleber, entsprechend ungefähr 1750 gr. Trockensubstanz erhielt derselbe 2,5 gr. Indol, aus 8 kg. (ungefähr 2800 gr. Trockensubstanz) ca. 3 gr. Indol. Auch hier findet sich keine Angabe über die Menge des unlöslichen Rückstandes. Veranschlagt man die Quantität des in Lösung gegangenen Eiweiss auf rund 90%, so würde sich hieraus im Durchschnitt pro Mille zersetztem Eiweiss ungefähr 1,4 gr. Indol berechnen. In diesem Falle ist das Indol direkt in Substanz dargestellt und zwar fast genau auf demselben Wege, den wir auch befolgten. Trotzdem ist die Quantität des erhaltenen Indols weit geringer, als die von uns namentlich aus Fibrin erhaltene.

Weitere quantitative Angaben sind unseres Wissens nicht vorhanden.

---

<sup>1)</sup> Auch der Aschengehalt ist nicht berücksichtigt, doch sind die dadurch bedingten Differenzen sehr geringfügig.

Mag nun der Grund der Abweichung in der Methode liegen oder worin sonst, jedenfalls sind die von uns erhaltenen Indolmengen viel grösser, als die bisher dargestellten. Diese Beobachtung ist nicht ohne Bedeutung. Sie zeigt, dass die Indolgruppe des Eiweiss einen weit grösseren Bruchtheil des Moleküls darstellt, als man bisher annahm. Weiter scheint es, als ob dieser Bruchtheil bei den verschiedenen Eiweisskörpern eine verschiedene Grösse habe. Wenn sich dieses wirklich so verhält, so ist damit zum ersten Male eine tiefer gehende chemische Differenz in der Constitution verschiedener Eiweisskörper im engeren Sinne nachgewiesen, da die bisherigen Unterschiede wesentlich die Löslichkeitsverhältnisse betreffen.

Man könnte gegen diesen Schluss einwenden, dass man aus derselben Quantität ein und desselben Eiweisskörpers nicht immer genau dieselbe Menge Indol erhält, dass die Quantität desselben vielmehr auch von äusseren Verhältnissen beeinflusst wird.

Odermatt hat angegeben, dass die Mengen des Indols mit der Dauer der Fäulniss zunächst zunimmt, später abnimmt. Dieses Verhältniss geht — wenigstens was den ersten Theil des Satzes betrifft — auch aus unseren Versuchen an Fibrin einigermaßen hervor, während in den mit Fleisch angestellten Versuchen die Menge des Indols innerhalb der gewählten Zeitintervalle ziemlich unabhängig von der Dauer der Fäulniss erscheint.

Man könnte auch eine gewisse Unsicherheit im Verlauf des Fäulnissprozesses gegen unsere Anschauung in's Feld führen: gewiss ist auch die ziemlich verbreitete Ansicht, dass man den Ablauf der Fäulniss nicht vollständig beherrsche, nicht ganz unbegründet. Unsere eigenen Erfahrungen liefern einen Beleg dazu: die Inconstanz in dem Auftreten des Skatols in den Fleischversuchen. Aber alle diese Einwendungen erscheinen unbegründet, wenn zwei Eiweisskörper in einer Reihe von Einzelversuchen constant sehr verschiedene Mengen Indol liefern, wenn die Differenzen stets nach derselben Seite liegen und so bedeutend sind, wie in unseren

Versuchen mit Fibrin und Muskelfleisch; durchschnittlich lieferte das Fibrin ca. 3 mal so viel Indol, wie die Eiweisskörper des Fleisches. Es ist gänzlich undenkbar, dass trotz aller Bemühungen, die Bedingungen möglichst gleichmässig zu gestalten, in den Fleischversuchen stets die für die Mengenverhältnisse des Indols ungünstigen, in den Fibrinversuchen die günstigen Bedingungen geherrscht haben sollen. Wir stehen vielmehr nicht an, die gefundenen Unterschiede auf die Natur der Eiweisskörper zu beziehen, namentlich die Unterschiede zwischen dem Fibrin und dem Muskelfleisch<sup>1)</sup>.

### VII. Ueber den Modus der Entstehung des Indols aus dem Eiweiss.

Es scheint nach den bisherigen Angaben festzustehen, dass die Menge des Indols mit der Dauer der Fäulniss zunächst zunimmt.

So erhielt O der matt (l. cit.) aus Serumalbumin für 1000 Theile Trockensubstanz am 7. Tage der Fäulniss 1,3 Indol, am 10. 1,53; aus Fibrin am 6. Tage 1,2, am 12. 1,75.

Auch unsere Fibrinreihe zeigt ein solches Anwachsen, wiewohl die Differenzen nicht erheblich sind. Auf 1000 Th. gelöstes Eiweiss wurden erhalten:

|    |         |      |       |
|----|---------|------|-------|
| am | 4. Tage | 7,2  | Indol |
| «  | 9. «    | 7,6  | «     |
| «  | 13. «   | 10,5 | «     |

Berücksichtigt man die ersten Tage der Fäulniss, so ist das Ansteigen natürlich stärker ausgeprägt. Es liegt a priori sehr nahe, diese Erscheinung darauf zu beziehen, dass mehr und mehr Eiweiss, resp. Pepton in die Zersetzung hineingezogen wird; andererseits ist es aber auch denkbar, dass bei der Fäulnisspaltung zuerst eine Muttersubstanz des Indols gebildet wird, aus welcher sich erst allmähig Indol abspaltet. Für diese Anschauung spricht, dass die Menge des ungelöst gebliebenen Eiweiss in den ersten Tagen der Fäulniss, wie unsere Versuche zeigen, nicht erheblich grösser

<sup>1)</sup> Versuch XV kommt, als kalt angestellt, hier nicht in Betracht.

ist, wie in den späteren. Auch eine Beobachtung von Baumann<sup>1)</sup> spricht für die letztere Anschauung: Baumann constatirte, dass aus Fäulnismischungen, welche erst kürzere Zeit gestanden hatten, beim Schütteln mit Aether Substanzen übergangen, welche bei weiterer Fäulniss Indol lieferten.

Immerhin schien es wünschenswerth, noch weitere Beweise für die Richtigkeit der letzteren Anschauung zu gewinnen. Zu diesem Zweck wurde folgender Versuch an- gestellt:

2000 gr. feuchtes Fibrin (24,9% Trockengehalt) wurden in der gewöhnlichen Weise mit 8 Liter Wasser und 200 cbcm. Natriumcarbonatlösung angesetzt, geimpft etc. Nach 48 Stunden war bereits der grösste Theil des Fibrins gelöst. Es wurden nun Proben von je 200 cbcm. nach gutem Durchschütteln von der Mischung abgegossen, und zwar nach 2, 3, 4, 6 und 8mal 24 Stunden, mit Essigsäure destillirt, bis alles Indol übergegangen war, im Destillat nach Nencki durch verdünnte rauchende Salpetersäure gefällt und als salpetersaures Nitrosoindol gewogen<sup>2)</sup>.

In dem Destillationsrückstand wurde Eiweiss und Pepton bestimmt.

Zu dem Zweck wurde die im Destillirkolben befindliche rückständige Flüssigkeit nach dem Verdünnen filtrirt, was sehr gut von statten ging, der Rückstand (a) gewaschen und bei 120° getrocknet. Filtrat und Waschwasser wurden auf dem Wasserbade völlig eingedampft und mit absolutem Alkohol behandelt, der unlösliche Rückstand auf dem Filter gesammelt, mit absolutem Alkohol sorgfältig ausgewaschen, alsdann wiederholt auf dem Filter mit heissem Wasser behandelt, das Filtrat aufgefangen. Dabei blieb ein sehr unbedeutender Rückstand (b), dessen Gewicht zu (a) hinzuaddirt werden muss.

---

1) Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, Bd. XIII, S. 284.

2) Wenn es auch zweifelhaft bleibt, ob diese Methode ganz richtige Resultate giebt, so sind die Werthe doch unter einander vergleichbar; besser wäre es vielleicht gewesen, das Indol nach vorgängiger Extraction durch Aether als Pikrat zu bestimmen.

Aus je 200 cbcm. der durchgeschüttelten Mischung wurde so an ungelöster Eiweisssubstanz erhalten:

|                  | a     | b     | a + b |
|------------------|-------|-------|-------|
| Nach 2 Tagen . . | 3,687 | 0,126 | 3,813 |
| Nach 3 Tagen . . | 2,869 | 0,100 | 2,969 |
| Nach 4 Tagen . . | 1,675 | 0,097 | 1,772 |
| Nach 6 Tagen . . | 0,880 | 0,089 | 0,969 |
| Nach 8 Tagen . . | 0,560 | Spur  | 0,560 |

Die beim Auswaschen von (b) erhaltenen neutral reagirenden klaren Lösungen wurden auf je 100 cbcm. gebracht und polarimetrisch untersucht. Am 2., 3., 4. und 6. Tage war Linksdrehung zu constatiren, dieselbe war jedoch sehr gering und überstieg in keinem Fall 0,3 am Soleil-Ventzke'schen Apparat. Die Lösungen gaben Peptonreaction. Die entsprechende Lösung vom 8. Tage bewirkte keine Linksdrehung, gab auch keine Peptonreaction<sup>1)</sup>. Bei der Berechnung sind die kleinen Mengen Pepton nicht berücksichtigt.

Die auf 200 cbcm. entfallende Quantität Eiweiss ist auf rund 10 gr. zu veranschlagen. Zieht man hiervon die für den ungelösten Rückstand ermittelten Werthe ab, so ergibt sich die Menge des gelösten Eiweiss, die in der nachfolgenden Zusammenstellung zugleich mit den für das Gewicht des salpetersauren Nitrosoindol erhaltenen Zahlen enthalten sind:

|                             | Gelöstes<br>Eiweiss. | Salpetersaures<br>Nitrosoindol. |
|-----------------------------|----------------------|---------------------------------|
| Nach Ablauf von 2 Tagen . . | 6,187                | 0,026                           |
| Nach Ablauf von 3 Tagen . . | 7,031                | 0,050                           |
| Nach Ablauf von 4 Tagen . . | 8,228                | 0,079                           |
| Nach Ablauf von 6 Tagen . . | 9,031                | 0,116                           |
| Nach Ablauf von 8 Tagen . . | 9,440                | verloren                        |

Die Menge des erhaltenen salpetersauren Nitrosoindol steigt, wie man sieht, in stärkerer Progression, wie die

<sup>1)</sup> Dieselbe wurde zur Trockene gedampft, wobei sie sich in einem gewissen Zeitpunkte unter Ausscheidung von Calciumphosphat milchig trübte. Der Trockenrückstand betrug 0,1384 gr.; bei stärkerem Erhitzen trat Verkohlung ein unter Verbreitung von Geruch nach verbranntem Horn. Die Asche — grösstentheils Calciumphosphat — betrug 0,0694 (!), also die Hälfte des Rückstandes. Der hohe Aschengehalt der neutral reagirenden Lösung ist jedenfalls sehr bemerkenswerth. Wiederholt sind wir auf ähnliche stickstoffhaltige, stark aschehaltigen Substanzen gestossen, welche weder Eiweiss- noch Peptonreaction gaben.

Menge des zersetzten Eiweiss. So steht die nach Ablauf von zwei Tagen erhaltene Indolmenge zu der nach sechs Tagen erhaltenen in dem Verhältniss von 1:4,5, während das gelöste Eiweiss sich wie 1:1,5 verhält. Auch dieser Versuch spricht somit dafür, dass bei der Fäulniss des Eiweiss das Indol nicht sofort als solches aus dem Eiweiss frei wird, sondern in Form einer Zwischenstufe, welche allmählig durch weitere Bacterienwirkung gespalten wird. Diese Zwischenstufe ist noch unbekannt, sie ist nicht etwa das Pepton, dessen Menge immer nur gering ist und in den späteren Tagen — wie es scheint — ganz verschwindet.

#### VIII. Die Abnahme des Indols in faulenden Flüssigkeiten.

Die Quantität des in faulenden Flüssigkeiten enthaltenen Indol nimmt, der allgemeinen Angabe nach, allmählig ab, mitunter bis zum völligen Verschwinden.

So lieferten in den Versuchen von O d e r m a t t<sup>1)</sup> 1000 Theile Trockensubstanz vom:

|                |                                    |                  |        |                   |
|----------------|------------------------------------|------------------|--------|-------------------|
| Rinderpancreas | am 4. Tage                         | 0,427 gr. Indol, | am 14. | 0,358 gr.         |
| Serumalbumin   | « 10. «                            | 1,53 « «         | « 19.  | 0,25 «            |
| Muskeleiweiss  | in 2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> « | 1,19 « «         | « 8.   | 0,19, am 17. 0,1. |

Nencki<sup>2)</sup> vermisste Indol in einem fünf Monate alten, faulenden Gemisch vollständig, trotzdem es vorher sicher darin enthalten war, in einem drei Monate alten fanden sich nur Spuren.

Brieger<sup>3)</sup> fand schon nach elf Tagen in faulenden Lebermischungen kein Indol mehr vor, dessen Anwesenheit in den vorhergehenden Tagen constatirt war.

In unseren Versuchen war eine Abnahme des Indols nicht zu constatiren, selbst in dem Fibrinversuch von 26 Tagen Dauer lieferten 406 gr. trockenes Eiweiss immer noch 3,892 gr. Indol = 9,8 ‰ des gelösten Eiweiss. Diese Quantität bleibt nur wenig hinter der Ausbeute am 13. Tag zurück, ja sie

1) Journal für praktische Chemie, N. F., Bd. 18, S. 249.

2) Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften 1878, Nr. 47.

3) Diese Zeitschrift, Bd. III, S. 139.

stimmt fast absolut damit überein, wenn man der Rechnung nicht die in Lösung gegangene Quantität Eiweiss zu Grunde legt, sondern — wie das alle Autoren thun — die angewendete Quantität Trockeneiweiss. Es berechnet sich alsdann:

Versuch IV. 420,3 gr. Trockensubstanz gaben bei 13tägiger Fäulniss  
4,0594 gr. Indol = 9,66‰.

Versuch V. 406 gr. Trockensubstanz gaben bei 26tägiger Fäulniss  
3,892 gr. Indol = 9,50‰.

Noch etwas grösser ist die Quantität des Indols in dem Fibrinversuch von 38 Tagen Dauer, nämlich 11,5 ‰.

Diese Abweichung in unseren Resultaten führt uns auf die Ursache für die allgemein angegebene Verminderung des Indols bei längerer Digestion. Alle Versuche der Autoren sind in offenen Gefässen angestellt, die unserigen in einem Kolben, der nur so lange die Gasentwicklung lebhaft war, locker, später ganz oder fast ganz geschlossen war. Namentlich ist in den Fibrinversuchen IV, V, Va der Kolben vom 5. Tage ab vollständig geschlossen gehalten. Er stand mittels Gummischlauch und aufgesetzter Klemme mit einer Waschflasche in Verbindung. Die Klemme war anfangs geöffnet, später war sie dauernd geschlossen und wurde einmal am Tage ein wenig geöffnet, um etwa entwickelten Gasen den Austritt zu gestatten, es war jedoch kein Ueberdruck vorhanden.

Es ist danach unzweifelhaft, dass die Abnahme des Indols in nicht bewegten Fäulnismischungen von der Verdunstung abhängt. Auch Odermatt hat (l. c.) diese Anschauung ausgesprochen, jedoch fehlte zum Beweis ihrer Richtigkeit offenbar der Nachweis, dass das Indol in Fäulnismischungen nicht abnimmt, wenn die Verdunstung ausgeschlossen ist. Der intensive Fäulnissgeruch, welcher in den Räumen herrscht, in denen offenstehende Fäulnissgemische aufbewahrt werden, hängt sicher zum guten Theile von dem verflüchtigten Indol ab, zum Theil freilich auch von den äusserst flüchtigen mercaptanartigen Verbindungen. Ist die Verdunstung beschränkt, so hält sich das

Indol ganz ausserordentlich lang. So gab das Destillat von 500 ccm. einer fünf Jahre alten faulenden Ascitesflüssigkeit, die in einer halb gefüllten, geschlossenen Flasche aufbewahrt worden war, starke Indolreaction, auch nach 10jähriger Aufbewahrung waren noch Spuren nachweisbar. Wir wollen damit nicht behaupten, dass es nicht auch andere Ursachen für die Abnahme des Indols gäbe. Es scheint vielmehr, dass auch bei Ausschluss der Verdunstung oder wenigstens sehr bedeutender Beschränkung derselben unter den sonst gewöhnlichen Versuchsbedingungen das Indol abnehmen kann.

Eine solche Abnahme zeigte sich z. B. in dem bereits früher erwähnten Fleischversuch XI. Nachdem die Mischung acht Tage gestanden hatte, wurde  $\frac{1}{10}$  davon abgenommen und noch weitere hundert Tage in einer Glasstöpselflasche, welche davon zur Hälfte angefüllt war, unter häufigem Schütteln bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrt, die übrigen  $\frac{9}{10}$  dagegen sofort verarbeitet. Diese Quantität lieferte 0,778 gr. Indol, also auf's Ganze bezogen 0,864 gr. Dagegen wurde aus dem  $\frac{1}{10}$ , das so lange gestanden hatte, nur 0,0304 gr. erhalten, also auf's Ganze berechnet 0,304 gr. Wenn nun auch die Verarbeitung einer kleinen Quantität leicht zu Verlusten Veranlassung giebt, so wird man doch einen Theil des Minus auf wirkliche Abnahme beziehen müssen.

Als mögliche Ursache dieser Erscheinung kommt die weitere fermentative Spaltung und die Oxydation durch den atmosphärischen Sauerstoff in Betracht.

Eine weitere fermentative Spaltung des Indols ist nicht nachweisbar, im Gegentheil: dasselbe ist, wie alle Endprodukte der fermentativen Spaltung aus der aromatischen Reihe ein recht starkes Antisepticum<sup>1)</sup>.

In dem Versuche von Odermatt, welcher darauf gerichtet war, etwaige Spaltungsprodukte des Indols durch

---

1) Odermatt hat zuerst auf diese Eigenschaft des Indols aufmerksam gemacht; Wernich sie an diesem, sowie einer Reihe anderer aromatischer Fäulnisprodukte genauer untersucht. (Virchow's Archiv, Bd. 78, S. 51).

Fäulniss festzustellen, verschwand dasselbe durch Verdunstung in einigen Tagen und Fäulniss trat erst ein, nachdem dasselbe verschwunden war. Es schien uns daher von Interesse, den Versuch unter Umständen zu wiederholen, welche die Verflüchtigung möglichst ausschlossen. Der Versuch misslang insofern, als sich die antiseptische Wirkung des Indols geltend machte, er ist aber in anderer Beziehung von Interesse.

0,75 gr. Indol, 7,5 gr. Fleischpulver, 750 cbcm. Wasser<sup>1)</sup>, 12 cbcm. gesättigte Lösung von Natriumcarbonat wurden gemischt und bei 42° digerirt, wiederholt kleine Mengen faulender Fleischflüssigkeit hinzugesetzt. Das Fleischpulver blieb ungelöst, eine eigentliche Fäulniss trat nicht ein. Nach sechs Monaten, während welcher Zeit die Flasche theils bei Brutwärme, theils bei Zimmertemperatur aufbewahrt und öfters geschüttelt war, wurde die Mischung durch Leinwand colirt, das rückständige Fleischpulver mit Wasser nachgewaschen. Nach längerem Trocknen auf dem Wasserbad wog dasselbe 0,7 gr. Es war intensiv orange gefärbt, eine kleine Probe nahm beim Uebergiessen mit verdünnter rauchender Salpetersäure purpurrothe Färbung an; bei nachfolgender Behandlung mit Alkohol ging der Farbstoff mit purpurrother Farbe in Lösung. Das Fleischpulver hatte also Indol aufgenommen. Es wurde nun mit Aether extrahirt der, Aether abdestillirt, der dabei bleibende Rückstand mit verdünnter Natronlauge destillirt; durch Ausschütteln des Destillates mit Aether wurde 0,0365 gr. gut krystallisirtes Indol erhalten. Indessen gelang es weder durch die Aetherextraction, noch durch die nachfolgende Destillation des Fleischpulvers mit Ammoniak, wobei in das Destillat Indol überging, das Fleischpulver ganz von dem Indol zu befreien, welches es trotz langem Trocknen auf dem Wasserbade festgehalten hatte. Es behielt seine Orange-Färbung und die Reaction mit verdünnter rauchender Salpetersäure.

---

1) Der Versuch ist bereits am 25/4 1879 angestellt, zu einer Zeit, da die antiseptische Wirkung des Indols noch nicht näher bekannt war; nach unseren jetzigen Kenntnissen war die Indollösung viel zu concentrirt, um eine Entwicklung von Organismen aufkommen zu lassen.

Aus der vom Fleischpulver abfiltrirten Flüssigkeit wurde 0,415 gr. Indol erhalten. Der Versuch ist deshalb von Interesse, weil er zeigt, wie ausserordentlich hartnäckig das Indol von festen Substanzen zurückgehalten werden kann. In der Beurtheilung negativer Indolbefunde wird daher immer einige Vorsicht geboten sein.

Ist nun die Fermentation auszuschliessen, so bleibt als Ursache der Abnahme des Indols — ausser der Verdunstung — nur die Oxydation übrig.

Hoppe-Seyler<sup>1)</sup> hat bekanntlich gezeigt, dass es in faulenden Flüssigkeiten, sobald für einen genügenden und fortdauernden Zutritt von Sauerstoff gesorgt ist, überhaupt nicht zur Bildung von Indol, resp. Skatol kommt.

Danach ist es wohl denkbar, dass auch in Fleischflüssigkeiten, die wiederholt mit Luft durchgeschüttelt wurden, die Oxydation als Ursache für die Abnahme des Indols in Betracht kommt, für nicht bewegte Flüssigkeiten ist dieses gewiss nur in sehr untergeordnetem Grade, wenn überhaupt der Fall, die Verdunstung des Indols spielt in diesen Fällen sicher die Hauptrolle.

### IX. Die Darstellung von Indol aus Eiweiss.

Brieger empfiehlt auf Grund seiner Versuche zur Darstellung des Indols die Fäulniss der Leber, welche nach ihm etwa 1,2‰ ihres Trockengewichtes Indol liefert. Nach unseren Versuchen erscheint Blutfibrin weit besser geeignet, da es je nach der Dauer der Fäulniss 6,6—11,3 ‰ des Trockengewichtes an Indol ergiebt. Zur Einleitung der Fäulniss ist kein anderes Material besser geeignet, wie eine Fleischmaceration, die in der früher angegebenen Weise hergestellt ist. Man ist des Erfolges, sowie der Menge des Indols durchaus sicher und kann beträchtliche Quantitäten Indol mit nicht zuviel Mühe darstellen. Grössere Quantitäten, als jedesmal 2 kg. feuchtes, gut abgepresstes Blutfibrin in Anwendung zu ziehen, ist nicht rätlich.

<sup>1)</sup> Ueber die Einwirkung des Sauerstoffs auf Gährungen, Festschrift 1881, und Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. VIII, S. 214.

Was die Dauer der Fäulniss betrifft, so scheint die Ausbeute vom 13. Tage nicht mehr wesentlich zu steigen, aber wir fanden das erhaltene Indol beträchtlich skatolhaltig. Das am 26. und 38. Tage erhaltene Indol war fast ganz skatolfrei. Da die lange Digestion aber nicht zu verkennende Unbequemlichkeiten hat, namentlich, wenn es sich um schnelle Darstellung grösserer Mengen handelt, so thut man wohl besser, auf das Maximum an Ausbeute zu verzichten und nur 5 oder 6 Tage zu digeriren. Man kann dann immer noch auf 6,5% des Trockengewichtes an Indol rechnen.

Der Bequemlichkeit halber führen wir die Hauptpunkte der Darstellung nochmals an: 2 kg gut abgepresstes Blut-fibrin, 8 Liter Wasser von 40—42° (wir nahmen Berliner Leitungswasser) welchem 2 gr.  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  und 1 gr. krystallisiertes Magnesiumsulfat zugesetzt werden, 200 ccm. bei gewöhnlicher Temperatur gesättigte Lösung von Natriumcarbonat werden gemischt, dann einige Cubiccentimeter Fleischmaceration zugesetzt, nebst einigen darin befindlichen Fleischstückchen, der Kolben mit einem Kork geschlossen, welcher in der Bohrung eine Glasröhre mit aufgesetztem Gummischlauch trägt. Der Schlauch steht mit einer Waschflasche in Verbindung und trägt eine Klemme, die in den ersten Tagen etwas geöffnet wird. Man digerirt bei 42° unter zeitweisem Umschütteln; sobald die Gasentwicklung nachlässt, wird die Klemme geschlossen (man kann natürlich auch ein Ventil anwenden, das nur den entwickelten Gasen Austritt gewährt). Nach Ablauf von 5 bis 6 × 24 Stunden wird die Mischung direkt destillirt und wie angegeben verarbeitet.

Zur Reinigung des erhaltenen Indols ist die Fällung mit Pikrinsäure nicht empfehlenswerth, so vortreffliche Dienste dieselbe auch leistet, wo es sich um die Isolirung des Indols aus unreinen Gemischen handelt, wenigstens geht bei der Destillation mit Ammoniak viel Indol verloren. Das Umkrystallisiren aus Wasser ist vollständig genügend.

Die Darstellung von Skatol durch Eiweissfäulniss ist so lange nicht empfehlenswerth, als man noch nicht im Stande, beliebig «Skatolfäulniss» hervorzurufen. Am ehesten lässt

sich zur Darstellung die Skatolcarbonsäure verwenden, resp. das Gemisch von Oxysäuren und Skatolcarbonsäure. Durch Spaltung derselben erhält man aus Fibrin im günstigsten Falle etwa 2,3‰ des Trockengewichtes an Skatol, eine Ausbeute, die freilich erheblich grösser ist, als die von Brieger aus Serumalbumin erzielte — etwa 0,5‰ — aber doch immer spärlich genug. Die hierzu am besten einzuschlagenden Wege werden wir in der folgenden Arbeit über die Skatolcarbonsäure besprechen.

---

### Analytische Beläge.

---

#### A. Versuche mit Fibrin.

Versuch I. Feuchtes Fibrin 2000 gr.

2,7425 gr. Fibrin gaben 0,6658 gr. Trockenrückstand und 0,0056 gr. Asche. Gehalt an aschefreiem Eiweiss 24,1‰. Also angewendet 482 gr. aschefreies Eiweiss. Ungelöster Rückstand 85 gr. 0,4770 gr. desselben mit Natronkalk verbrannt, erfordert 17,8 ccm. Ag-Lösung von der 1 ccm. = 0,01 NaCl = 8,93‰ N = 55,81‰ Eiweiss, also Eiweiss im Rückstand 47,44 gr., gelöst 434,56 gr. = 90,1‰.

Versuch III. 5 Einzelversuche:

- a) 2000 gr. 3,578 gr. gab 0,6798 Trockenrückstand = 19,6‰.
- b) 2000 gr. 4,008 gr. gab 0,7335 Trockenrückstand = 18,3‰.
- c) 2250 gr. 2,550 gr. gab 0,539 Trockenrückstand = 21,1‰.
- d) 1940 gr. 3,874 gr. gab 0,919 Trockenrückstand = 23,6‰.
- e) 200 gr. 3,1805 gr. gab 0,820 Trockenrückstand = 25,8‰.

In den fünf Versuchen im Ganzen angewendet 10,190 gr. feucht = 2193 gr. aschehaltige Trockensubstanz. Hiervon abziehen der Aschegehalt der Trockensubstanz 1,3274 gr. gab 0,0112 Asche = 0,84‰. Daraus berechnet sich: angewendete aschefreie Trockensubstanz 2175,4 gr. Der ungelöste Rückstand aus den 5 Versuchen betrug 405 gr.

0,4932 gr. desselben erforderte bei der N-Bestimmung 16,4 ccm. Ag-Lösung = 7,94‰ N  $\times$  6,25 = 49,825 Eiweiss, also Eiweiss im Rückstande 201,7 gr., Eiweiss gelöst 1973,6 = 90,7‰.

## Versuch IV. Feuchtes Fibrin 1714 gr.

3,7048 gab 0,9154 Trockenrückstand, 0,7198 Trockenrückstand hinterliess 0,0056 Asche. Gehalt des Fibrins an aschefreiem Eiweiss  $24,52\% = 420,3$  gr.

Ungelöster Rückstand: a) durch schwachen Alkohol gefällt 37,5 gr, 0,5678 gr. erforderte 14,54 Ag-Lösung  $= 6,17\% N \times 6,25 = 38,56\%$  Eiweiss  $= 14,45$  gr. ungelöstes Eiweiss. b) Durch absoluten Alkohol gefällt, mit Alkohol gewaschen, über  $SO_4H_2$  getrocknet  $= 4,0$  gr. 0,3818 gr. desselben erfordert 11,4 ccm. Ag-Lösung  $= 7,32 N = 45,75\%$  Eiweiss  $= 1,83$  gr.

Eiweiss im Rückstand  $14,45 + 1,83 = 16,28$  gr.

Eiweiss gelöst 386 gr.  $= 91,8\%$ .

## Versuch V: Feuchtes Fibrin 2000 gr.

3,2914 gr. gab 0,6756 Trockenrückstand und 0,007 Asche. Gehalt des Fibrins an aschefreiem Eiweiss  $20,3\% = 406$  gr.

Ungelöster Rückstand 22,0 gr.

0,5074 gr. desselben erforderte 12,8 ccm. Ag-Lösung  $= 6,03\% N = 37,69\%$  Eiweiss, also:

Eiweiss im Rückstand 8,28 gr.

Eiweiss gelöst 397,7 gr.  $= 98\%$ .

## Versuch Va. Feuchtes Fibrin 2000 gr.

2,466 gr. gab 0,6180 gr. Trockenrückstand und 0,0046 gr. Asche. Gehalt des Fibrins an aschefreiem Eiweiss  $24,87\% = 497,4$  gr.

Ungelöster Rückstand: 28,4 gr.

0,5668 gr. desselben erforderte 14,0 ccm. Ag-Lösung  $= 5,91\% N = 34,88\%$  Eiweiss, also:

Eiweiss im Rückstand 8,90 gr.

Eiweiss gelöst 488,5 gr.  $= 98,2\%$ .

---

### B. Versuche mit Fleisch.

Nummer VI—XV. Angewendet stets 2 kg. Fleisch  $= 400$  gr. Eiweiss. N-Gehalt des Rückstandes aus den Fleisch-Versuchen.

0,4402 gr. erforderte 14,5 ccm. Ag-Lösung. Daraus berechnet sich N-Gehalt  $7,88\% = 49,25\%$  Eiweiss.

| Vers.-Nr. | Ungelöst. | Darin Eiweiss. |
|-----------|-----------|----------------|
| VI.       | 66        | 32,5           |
| VII.      | 68        | 33,6           |
| VIII.     | 63,5      | 31,3           |
| IX.       | 85,0      | 41,9           |

| Vers.-Nr. | Ungelöst. | Darin Eiweiss. |
|-----------|-----------|----------------|
| X.        | 59,0      | 29,1           |
| XI.       | 55,5      | 27,3           |
| XII.      | 61,0      | 30,0           |
| XIII.     | 68,0      | 33,6           |
| XIV.      | 59        | 29,1           |
| XV.       | 106       | 52,2           |

---

### C. Versuche mit Fleischfibrin.

Nr. XVI. Angewendet 75 gr.

1,1524 gr. verlor 0,1210 H<sub>2</sub>O und hinterliess 0,0224 Asche; daraus berechnet sich 1,0090 aschefreie Trockensubstanz = 86,30%, also für 75 gr. 64,73 gr. Gewicht des Rückstandes 6,0 gr. N-Gehalt nicht bestimmt, geschätzt zu 50% Eiweiss.

Nr. XVII. Angewendet 150 gr.

1,5578 gr. verlor 0,1468 H<sub>2</sub>O, hinterliess 0,0184 Asche. Daraus berechnet sich 89,40% aschefreie Eiweiss. 150 gr. enthalten somit 134,1 gr. aschefreies Eiweiss.

Ungelöst 16,5 gr. = 8,25% Eiweiss.

---

### D. Versuche mit Serumalbumin.

0,9684 gr. des zu allen Versuchen angewendeten Serumalbumin gab bei anhaltendem Trocknen 0,1242 Wasser und hinterliess 0,0762 Asche. Daraus berechnet sich Gehalt an aschefreiem Eiweiss 79,30%, somit in 150 gr. 108,95% Eiweiss.

0,4678 gr. des Fäulnisrückstandes erfordert bei der N-Bestimmung 12,4 ccm. Ag-Lösung = 6,34% N = 39,6% Eiweiss.

Gewicht des Fäulnisrückstandes in Versuch XVIII = 11,45 gr. Versuch XIX = 9,85 gr., in Versuch XX = 11,20. Somit ungelöstes Eiweiss in Versuch XVIII = 4,53 gr., in Versuch XIX = 40,0 gr., in Versuch XX 4,43 gr.

---

### E. Versuche mit Pancreaspepton.

Nr. XXI. Angewendet 257 gr. feuchtes Pepton. 5,3570 gr. gaben 3,823 gr. Trockenrückstand.

1,3224 gr. gab 0,0140 Asche. Daraus berechnet sich Gehalt an aschefreier Eiweisssubstanz 70,24%, für die angewendeten Menge also 180,5 gr.

Gewicht des ungelösten Rückstandes 15,2 gr. 0,4414 gr. desselben erforderten 14,4 ccm. Ag-Lösung = 7,86% N = 49,12% Eiweiss. also ungelöstes Eiweiss 7,5 gr.

Nr. XXII. 4000 ccm. Peptonlösung davon 3960 gr. in zwei Portionen mit je 9 Liter Wasser angewendet. 10 ccm. Lösung gaben 2,723 Trockenrückstand und 0,031 Asche. 3900 ccm. entsprach 1094,8 aschefreie Trockensubstanz. Ungelöster Rückstand 75 gr. = 36,8 gr. Eiweiss.