

**Ueber einige in einem Falle von sogenannter „Wurstvergiftung“
aus dem schädlichen Materiale dargestellte Fäulnisbasen,
sowie über einige, durch die Thätigkeit eines besonderen, im
gleichen Materiale aufgefundenen, Bacillus gebildete
Zersetzungs-Producte.**

Von

Alex. Ehrenberg.

(Mittheilung aus dem physiologisch-chemischen Institute der Universität Tübingen.)
(Der Redaction zugegangen am 20. December 1886.)

I. Ueber einige in der giftigen Wurst aufgefundenene Basen.

Bekanntlich treten zur Sommerszeit nach dem Genusse von Würsten — besonders Leberwürsten — bisweilen Vergiftungserscheinungen auf, welche man auf die Anwesenheit und Wirkung eines besonderen, einheitlichen, mit dem Namen «Wurstgift» belegten, Stoffes zurückführen zu dürfen glaubte. Derartige Vergiftungserscheinungen kommen im Süden Deutschlands häufiger vor, als im Norden; am häufigsten jedoch im Königreich Württemberg. Hier wurde ich denn auch vor etwa einem Jahre von Gerichtswegen mit der chemischen Untersuchung des Restes einiger Würste betraut, deren Genuss kurz zuvor zur Vergiftung mehrerer Personen geführt hatte. Die Vergiftungserscheinungen waren in diesem Falle besonders intensive gewesen: zwei der Erkrankten waren sogar bald nach dem Genusse gestorben. Nach den Mittheilungen des behandelnden Arztes, Herrn Dr. Commerell, hatten die Würste bereits einen faulen Geruch gezeigt, als sie ihm zuerst vorgelegt wurden; als ich selbst sie zur Untersuchung erhielt, besaßen sie einen ausgeprägten Indolgeruch. — Da die chemische Analyse die Abwesenheit metallischer Gifte ergeben hatte, ging ich sofort daran, die Isolirung etwaiger

Fäulnisbasen — und zwar nach den damals eben bekannt gegebenen Methoden von L. Brieger¹⁾ — zu versuchen: zunächst aber wurde ein kleiner Theil der fraglichen Wurstmasse, nach Alkalisirung mit wenig Barythydrat, der Destillation mit Wasserdampf unterworfen. In der That zeigte das Destillat deutlich den Geruch nach Indol und mit salpetrigsäurehaltiger Salpetersäure gab es die für Indol charakteristische Rothfärbung in auffallender Weise, während allerdings die für Skatol charakteristische Violett-färbung auf Zusatz von Salzsäure nur äusserst schwach eintrat.

Nun wurden 1500 gr. der giftigen Wurst längere Zeit in zerkleinertem Zustande mit salzsäurehaltigem Wasser digerirt, die breiige Masse alsdann auf vorher angefeuchtete Filter gebracht, der Rückstand abermals extrahirt und das zweite Filtrat mit dem ersten vereinigt auf dem Wasserbade eingedampft. — Der schwach sauer reagirende Verdampfungsrückstand wurde mit Alkohol extrahirt, die Extractionsflüssigkeit filtrirt und eingedampft, nochmals mit Wasser aufgenommen, verdampft und wiederum mit Alkohol erschöpft: die klare alkoholische Lösung wurde mit alkoholischer Quecksilberchloridlösung gefällt, der nach 24 Stunden gewonnene Niederschlag abfiltrirt und in viel heissem Wasser gelöst. Schon beim Erkalten krystallisirte ein Theil eines Quecksilberdoppelsalzes aus, nach Zerlegung dessen mittels Schwefelwasserstoff im Filtrate vom Schwefelquecksilber ein zerfliessliches Chlorid übrig blieb, welches in Alkohol gelöst und mit alkoholischem Platinchlorid gefällt werden konnte. Dieses Platinsalz erwies sich nach dem Umkrystallisiren aus Wasser als das Platindoppelsalz des Cholins. Es zeigte nämlich die für jenes Salz charakteristischen über einander geschobenen Tafeln und bei der Platinbestimmung lieferte es folgenden für dasselbe zutreffenden Platinegehalt:

0,2135 gr. Substanz hinterliessen 0,0675 gr. Platin.

Gefunden:	Berechnet für
31,62 % Pt.	(C ₅ H ₁₄ NO) ₂ Pt Cl ₆ :
	31,87 % Pt.

¹⁾ L. Brieger, Ptomaine. Berlin 1885 u. 1886.

Der Rest des Platinsalzes wurde mittels Schwefelwasserstoff zerlegt und das nach dem Eindampfen des Filtrates vom Schwefelplatin erhaltene Chlorhydrat zu verschiedenen Reactionen benutzt.

Phosphorantimonsäure	gab einen weissen Niederschlag.
Phosphormolybdänsäure	» » starken gelblichen Niederschlag,
Phosphorwolframsäure	» » weissen körnigen Niederschlag,
Kaliumquecksilberjodid	» » gelben Niederschlag,
Quecksilberchlorid	» » weissen Niederschlag,
Goldchlorid	» ein krystallinisches Product,
Tanninlösung	» keine Reaction.

Als ca. 0,1 gr. des salzsauren Salzes einem ausgewachsenen Kaninchen per os, einem anderen ca. 0,05 gr. subcutan verabreicht wurden, konnte eine Störung des Befindens derselben nicht wahrgenommen werden. In der That giebt Brieger an, dass erst 0,5 gr. salzsauren Cholins die letale Dosis für ein Kaninchen von 1 kgr. Körpergewicht sei. Auch die Erfahrungen, welche Gaehtgens¹⁾, sowie R. Boehm über die giftige Wirkung des Cholins machten, stimmen mit diesem Befunde überein. Uebrigens berichtet R. Boehm²⁾, dass er bei Versuchen an Säugethieren — speciell an Katzen und Kaninchen — eine sehr auffallende Verschiedenheit der Empfänglichkeit für dieses Gift constatiren konnte.

Aus dem in Wasser leicht löslichen Theile der Quecksilberdoppelsalze liess sich nach Entfernung des Quecksilbers mittels Schwefelwasserstoff eine nicht unbeträchtliche Quantität (ca. 3 gr.) salzsaurer Salze gewinnen. Durch Darstellung der Platindoppelsalze und durch Reinigung dieser letzteren gelang es, weitere Basen zu isoliren. Zunächst wurden noch geringe Quantitäten des Cholinplatinsalzes erhalten; allein in zur Analyse nicht ausreichender Menge, so dass dessen Identität nur durch die mikroskopische Vergleichung der charakteristischen Krystallform festgestellt werden konnte. Aus der Lösung der Platindoppelsalze schossen aber ferner

1) *Dorp. med. Zeitschr.*, Bd. I (1870).

2) *Archiv für experim. Pathol. und Pharmakol.*, Bd. XIX, S. 92.

warzige, aus kleinen Nadeln bestehende Aggregate an, welche mechanisch ausgelesen und umkrystallisirt wurden. Zwar war auch ihre Menge zur Analyse nicht hinreichend, indess gelang es doch, die Krystalle durch Vergleich mit der Krystallform des Platindoppelsalzes vom Neuridin, welches ich mir früher einmal dargestellt hatte, als solche des letzteren zu erkennen.

Das Platin wurde hierauf durch Schwefelwasserstoff entfernt und nun konnten mit der Lösung des salzsauren Salzes einige Reactionen angestellt werden, welche in der That die Identität dieses Salzes mit Neuridin bezeugten; besonders waren es das krystallinische Goldsalz und das schwer lösliche, prächtig krystallisirende Pikrat, welche für dasselbe sprachen. — Nach hypodermatischer Injection des salzsauren Salzes machten sich an einem Kaninchen keinerlei Störungen bemerkbar.

Aus der Lauge der Platinsalze wurden ferner noch grössere nadelförmige Krystalle erhalten, welche sich nach dem Umkrystallisiren als Platindoppelsalz des Dimethylamins darstellten. Auch das aus diesem gewonnene einfache salzsaure Salz erwies sich durch seine Reactionen und durch den Geruch der durch Natronlauge in Freiheit gesetzten Base als Dimethylaminverbindung.

Die Analyse des Platindoppelsalzes gab folgendes Resultat:

0,2520 gr. Substanz hinterliessen 0,0981 gr. Platin.

Gefunden:	Berechnet für
	$[(\text{CH}_3)_2\text{NH HCl}]_2\text{Pt Cl}_4$:
38,91 % Pt.	39,36 % Pt.

Nach längerem Stehen im Exsiccator setzten sich endlich aus der Platinsalzmutterlauge noch kleinere Kryställchen ab, welche Octaederform besaßen. Da dieselben sehr leicht löslich waren und aus der Lauge nicht isolirt werden konnten, so wurde der ganze Rest in Wasser gelöst und aus dieser Lösung mittels Schwefelwasserstoff das Platin entfernt. — Nun erhielt ich beim Verdampfen der Lösung eine zerfliessliche Salzmasse, welche bei Zusatz von Natronlauge den Geruch nach Trimethylamin entwickelte, und durch Zusatz von Goldchlorid zur gleichen Lösung wurde ein Golddoppel-

salz gewonnen, welches die charakteristischen Formen des Trimethylamingolddoppelsalzes zeigte und sich auch bei der Analyse als solches zu erkennen gab. — Ein Theil des Goldsalzes gab, durch Schwefelwasserstoff vom Golde befreit, nach dem Eindampfen und nach Zusatz von Platinchlorid die leicht löslichen Octaeder des Trimethylaminplatin-doppelsalzes, nunmehr in reinem Zustande.

Das Goldsalz lieferte bei der Analyse folgende Zahlen:

0,3010 gr. Substanz hinterliessen 0,1490 gr. Au.

Gefunden:	Berechnet für
	$(\text{CH}_3)_3\text{NH AuCl}_4$:
49,51 % Au.	49,37 % Au.

Wurde endlich die goldsalzhaltige Mutterlauge durch Schwefelwasserstoff vom Golde befreit und eingedampft, ferner die hinterbleibende Salzmasse mit Natronlauge destillirt, das Destillat in verdünnter Salzsäure aufgefangen und wieder concentrirt, so erhielt ich zunächst auf Zusatz von Platinchlorid einen Niederschlag von gewöhnlichem Platinsalmiak, im eingengten Filtrate aber noch eine geringe Menge von Blättchen, welche wahrscheinlich das Platindoppelsalz des salzsauren Methylamins vorstellten. Zu einer genauen Untersuchung war ihre Menge leider unzureichend. In der ursprünglichen quecksilberchloridhaltigen alkoholischen Mutterlauge wurde nach dem Verdampfen des Alkohols, Wiederauflösen des Rückstandes in Wasser und Entfernen des Quecksilbers durch Schwefelwasserstoff neben viel Salmiak hauptsächlich nur noch Trimethylamin gefunden.

So wurden also aus der zur Untersuchung verwendeten Wurst neben Ammoniak die Basen: Cholin, Neuridin, Dimethylamin und Trimethylamin — wahrscheinlich auch etwas Methylamin — isolirt und nachgewiesen.

Die Gesamtmenge der salzsauren Salze der letzteren betrug etwas über 3 gr. auf 1500 gr. Wurst.

Wenn man bedenkt, dass die Extraction der grossen Massen schwerlich eine ganz vollständige war und dass ferner bei dem Reinigungsverfahren jedesmal grosse Antheile der

einzelnen Substanzmengen verschwinden, so wird man die in der Wurst ursprünglich enthalten gewesene Quantität dieser Salze wohl auf das Doppelte veranschlagen dürfen; und so ergäbe sich dann für je eine Wurst von der hier üblichen Grösse (d. h. von ca. 300 gr. Gewicht) ein durchschnittlicher Gehalt von über 1 gr. an derartigen Fäulnisproducten.

Das Hauptproduct, welches isolirt werden konnte, war der Menge nach das Trimethylamin; dann erst kamen das Dimethylamin und das Cholin. Basen von ausgesprochener oder besonders hervorragender Giftigkeit konnten in unserem Falle nicht isolirt werden; denn auch das Cholin soll ja, wie schon oben hervorgehoben, erst in grösseren Dosen eine giftige Wirkung üben.

Allerdings konnte man bei der mikroskopischen Untersuchung des ersten Rohproductes, welches die Platindoppelsalze aller eventuell vorhandenen Basen enthalten musste, erkennen, dass ausser den angeführten, in grösserer Menge gefundenen, Substanzen auch noch andere in geringer Menge zugegen waren; allein als einem Kaninchen eine Lösung der salzsauren Salze dieses Rohproductes subcutan injicirt wurde, konnten an demselben durchaus keinerlei Vergiftungserscheinungen wahrgenommen werden. Da nun auch Hunde von der gleichen Wurst ohne Zeichen irgend welcher Beschwerden gefressen haben, so muss man annehmen, dass entweder gewisse Stoffe nur auf den menschlichen Organismus giftig wirken, oder — was wohl wahrscheinlicher — dass die Dauer der Giftigkeit der faulenden Wurst nur eine vorübergehende und dass die giftigen Producte bereits wieder zerstört gewesen, als ich die Wurst zur chemischen Untersuchung erhielt. Dagegen erinnere ich mich allerdings auch eines früheren Falles, wo Hunde von der gleichen Wurst, deren Genuss bei Menschen heftiges Uebelbefinden hervorgerufen, zur gleichen Zeit ohne nachfolgende Störung ihres Befindens gefressen hatten.

Bekanntlich hat Brieger (loc. cit.) bei seinen Untersuchungen über die Ptomaine neben Cholin und anderen Basen auch Neurin, das schon zu den ausgesprochenen Giften gehört, aus faulem Fleische zu isoliren vermocht; und so ist

es denn nicht unwahrscheinlich, dass die giftige Wirkung verdorbener Würste in der That von der Anwesenheit des Neurins in denselben herrührt, einer Base, welche sich ja durch Wasserabspaltung aus dem Cholin zu bilden vermag. Die Gegenwart des Cholins sowohl, wie diejenige des Di- und Trimethylamins, welch' letztere man mit gleichem Rechte als Zersetzungsproducte des Neurins, wie als solche des Cholins betrachten kann, lassen dies als nicht unwahrscheinlich erscheinen.

Vielleicht war gerade das Neurin in Folge seiner grossen Zersetzlichkeit zur Zeit meiner Untersuchung bereits wieder verschwunden und deshalb in dem vorliegenden Materiale nicht mehr nachweisbar.

So viel ist indessen jedenfalls durch die vorstehende Untersuchung mit Bestimmtheit nachgewiesen, dass in Würsten, deren Genuss alle Symptome der sogenannten Wurstvergiftung¹⁾ — Störungen im Magendarmkanal und functionelle Störungen im Gebiete einzelner Augennerven: Pupillenerweiterung, Accommodationslähmung etc. — zur Folge hatte, leicht eine Anzahl von Basen gefunden werden, die schon anderweitig als Fäulnissalkaloide erkannt sind.

II. Ueber einige durch die Thätigkeit des aus dem Untersuchungsmateriale isolirten Bacillus aus Nährstoffen erzeugte Basen.

Die bacteriologisch-mikroskopische Untersuchung der verdächtigen Würste hatte Herr Professor Nauwerck übernommen. Es gelang demselben alsbald, darin die Anwesenheit eines Gelatine schnell verflüssigenden Bacillus, sowie diejenige zweier verschiedener Mikrokokken nachzuweisen.

Während nun die letzteren auf Nährgelatine nur eine äusserst langsame Entwicklung zeigten, wuchs dagegen der Bacillus sehr rasch unter vollständiger Verflüssigung seines Nährbodens. Wir hielten es daher nicht für unmöglich, dass

¹⁾ Med. Corresp.-Blatt des württembergisch. ärztl. Landesvereins, 1886, S. 154.

gerade die Anwesenheit dieses besonderen Bacillus mit dem Auftreten giftig wirkender Stoffe in ursächlichen Zusammenhang zu bringen sei.

Herr Professor Nauwerck hatte die Freundlichkeit, mir Reinculturen seines Bacillus zur Verfügung zu stellen, so dass ich nun auch noch Gelegenheit erhielt, die basischen Stoffwechselproducte dieses aus der Wurst stammenden Mikroorganismus unter verschiedenen Bedingungen etwas näher zu studiren.

Bei der histologischen Untersuchung der Würste hatte sich herausgestellt, dass Fleisch, Blut, Leber, Lunge und Speck deren wesentliche Bestandtheile waren, und diese Masse war in Dick- und Dünndärme, sowie in Mägen eingefüllt. Um zu entscheiden, welche Bestandtheile derselben für eine Infection der Würste besonders günstig seien, wurden getrennte Culturen des Bacillus auf Blut, Leber, Lunge und Herz, sowie auf Därmen hergestellt, und später der chemischen Untersuchung auf Fäulnissbasen unterworfen. Ausserdem wurden auch Culturen auf Gelatine und auf einer Lösung von Fleischpepton in verschiedenen Stadien der Zersetzung untersucht.

1. Einwirkung des Bacillus auf Blut.

Defibrinirtes Blut wurde durch zehnstündiges Erhitzen im Kochsalzbade in drei grösseren Kolben (je 2 Kilo) sterilisirt und die Kolben mit sterilisirtem Baumwollenverschluss versehen. Diese Kolben wurden sodann in bekannter Weise mit einer Reincultur des Bacillus inficirt und 10 Tage lang der Einwirkung desselben bei ca. 20° überlassen. Nach Ablauf dieser Zeit wurde zunächst ein kleiner Theil der Masse der Destillation mit Wasserdämpfen unterworfen und das Destillat auf Indol, Skatol und Phenol, auf die ersteren beiden mit positivem, auf letzteres mit negativem Erfolge geprüft; alsdann aber wurde die Hauptmenge des Fäulnissgemisches mit schwach salzsäurehaltigem Wasser auf dem Wasserbade digerirt und das Extract nach dem Verdampfen mehrmals mit Alkohol ausgezogen. Die Rückstände von

der Verdampfung der alkoholischen Auszüge wurden nach Brieger's Angaben durch Behandlung mit Quecksilberchlorid, Zersetzung der Quecksilberdoppelsalze, Herstellung von Platindoppelsalzen etc. zur Isolirung von eventuell gebildeten Basen verwendet. Die Reindarstellung der gebildeten Producte wurde hierbei sehr durch das Vorhandensein einer indifferenten amorphen — vielleicht eiweissartigen — Substanz erschwert, die in alle Lösungsmittel übergang und sich nur durch oft wiederholtes Fällen mit Aether nach und nach aus der alkoholischen Lösung entfernen liess. — Auch Brieger giebt an, einer derartigen Substanz bei seinen Untersuchungen begegnet zu sein. Amine konnten als Producte der Fäulniss nicht nachgewiesen werden; Ammoniak war nur in geringer Menge gebildet worden. — Dagegen wurde ein Körper erhalten, welcher in seinem Verhalten dem des Leucins sehr nahe kam. Beim Erhitzen im Reagensglas zeigte er den charakteristischen Geruch und das lockere Sublimat; er entwickelte mit salpetriger Säure Stickstoff, besass jedoch eine grössere Löslichkeit im Alkohol, als reines Leucin, eine Erscheinung, die indessen durch geringe Verunreinigungen des Körpers wohl bedingt sein konnte. Bei der Reinigung war die Menge desselben sehr zusammengeschwunden, reichte indessen eben noch zur Ausführung der Stickstoff-Bestimmung hin, welche allerdings einen für Leucin annähernd stimmenden Werth ergab.

0,2230 gr. Substanz ergaben 20,0 ccm. Stickstoff bei 9° und 739 mm. Barometerstand, entsprechend 10,50% N, während Leucin 10,71% verlangt.

Als Producte der Einwirkung des Bacillus auf Blut konnten demnach nur Indol, Skatol und Leucin nachgewiesen werden, Stoffe, die als Fäulnissproducte schon längst bekannt sind.

2. Einwirkung des Bacillus auf Leber und andere Organtheile.

Mehrere Kilogramme Lunge, Herz und Leber wurden in kleine, etwa nussgrosse Stücke zerschnitten und in Kolben

mit so viel Wasser, dass die Masse gerade davon bedeckt war, an drei Tagen je 6 Stunden im Kochsalzbade erhitzt. Die Kolben wurden am Ende mit sterilisirter Watte verschlossen und nach dem Erkalten mit dem Bacillus infect, welcher darauf sogleich vortrefflich gedieh. Nachdem die Fäulniss 10 Tage gedauert, wurde die Masse in den Kolben mit Wasser gekocht und das gewonnene wässrige Extract unter Zufügung von Salzsäure, zur Wahrung der sauren Reaction, auf dem Wasserbade eingedampft. Beim Oeffnen der Kolben war der Geruch nach Indol nur ganz schwach bemerklich, während der Geruch nach fetten Säuren — vorzüglich Buttersäure — entschieden vorherrschte.

Der beim Eindampfen der vorerwähnten Extractionsflüssigkeit resultirende Rückstand wurde wieder nach Brieger's Methode — Erschöpfen mit Alkohol, Fällung mit alkoholischer Lösung von Quecksilberchlorid, Zerlegung der Quecksilberdoppelsalze mittels Schwefelwasserstoff — zur Darstellung der chlorwasserstoffsäuren Salze eventuell gebildeter Fäulnissbasen verarbeitet.

Beim Umkrystallisiren der Quecksilberdoppelverbindungen, respective bei der Trennung der in Wasser löslichen Quecksilberdoppelsalze der salzsauren Basen von den unlöslichen Peptonverbindungen, wurde eine kleine Quantität eines schwer löslichen Doppelsalzes erhalten, welches nach dem Zerlegen mittels Schwefelwasserstoff und nach Verwandlung in die Platinverbindung als Doppelsalz des Cholins erkannt wurde.

0,1210 gr. Platinsalz hinterliessen 0,0383 gr. Platin, entsprechend 31,68% Pt. Cholinplatinchlorid verlaugt 31,87% Pt.

Aus dem in Wasser leichter löslichen Antheile der Quecksilberverbindungen resultirten nach Entfernung des Quecksilbers mittels Schwefelwasserstoff die salzsauren Salze mehrerer Basen, von denen Brieger's Neuridin, ferner Dimethylamin und Trimethylamin isolirt werden konnten. Die Isolirung wurde durch Umkrystallisiren der abwechselnd dargestellten chlorwasserstoffsäuren Salze und der Platindoppelsalze bewerkstelligt.

Das Platindoppelsalz des Neuridins gab bei der Analyse folgende Zahlen:

0,1930 gr. Substanz hinterliessen 0,0741 gr. Pt, entsprechend 38,393% Pt.
Neuridinplatinchlorid ($C_5H_{16}N_2PtCl_6$) verlangt 38,490% Pt.

Die Identität der vorliegenden Verbindung mit Brieger's Neuridin wurde noch durch Darstellung des schwer löslichen Pikrates, durch die Reactionen gegen die gebräuchlichen Alkaloidreagentien und durch die Darstellung des in feinen Nadeln krystallisirenden Goldsalzes erhärtet.

Das Goldsalz gab bei der Analyse folgende Zahlen:

0,1520 gr. Goldsalz hinterliessen 0,0766 gr. Au, entsprechend 50,41% Au.
Neuridingoldchlorid verlangt 50,38% Au.

Das Platindoppelsalz des Dimethylamins krystallisirt zuerst in Nadeln, während langsamer Verdunstung der Lösungen unter dem Exsiccator aber in grösseren, särgdeckelartigen Formen.

Bei der Analyse lieferte es folgende Zahlen:

0,4265 gr. Platindoppelsalz hinterliessen 0,1685 gr. Pt, entsprechend 39,507% Pt.

Dimethylammonplatinchlorid verlangt 39,36% Pt.

Aus den letzten Mutterlaugen der Platindoppelsalze schieden sich kleine Octaeder aus, welche nach mehrmaligem Umkrystallisiren und Absaugen analysenrein erhalten wurden. Dieselben stellten das Platindoppelsalz des Trimethylamins dar; denn bei Zerlegung des salzsauren Salzes mit Natronlauge machte sich sofort der charakteristische Geruch des Trimethylamins bemerklich. Ferner gaben:

0,3296 gr. Platinsalz 0,1240 gr. Platin, entsprechend 37,62% Pt, während Trimethylammonplatinchlorid 37,28% Pt verlangt.

Aus der alkoholischen, Quecksilberchlorid enthaltenden Lauge, welche nach Ausfällung der unlöslichen Quecksilberdoppelsalze erhalten wird, wurde nach dem Entfernen des Quecksilbers nur Salmiak gewonnen.

Wie Versuche an Thieren (subcutane Injection der Salzlösungen oder Application per os an Meerschweinchen und

Kaninchen) zeigten, waren giftige Substanzen nicht erhalten worden. Die Versuche wurden mit einer wässrigen Lösung des Verdampfungsrückstandes von einem Theile des ursprünglichen — noch alle Stoffe enthaltenden — alkoholischen Auszuges, sowie mit Lösungen der reinen salzsauren Salze angestellt.

3. Einwirkung des Bacillus auf Därme.

Um zu entscheiden, ob vielleicht die den Würsten als Umhüllung dienenden Därme zur Lieferung giftiger Substanzen besonders geeignet seien, wurden Därme durch mehrtägiges Kochen mit wenig Wasser (unter Entfernung des zuerst abgeschiedenen Fettes) sterilisirt und hierauf mit dem Bacillus inficirt. — Zu dem Versuche wurden 2 Kilo Därme verwendet, welche ich auf mehrere Kolben vertheilte; die Kolben selbst waren mit Stopfen von sterilisirter Watte geschlossen. — Wiederum nach 10 Tagen wurden dieselben geöffnet, der Inhalt nach dem Extrahiren mit salzsäurehaltigem Wasser filtrirt und nach Brieger's Gange weiter verarbeitet. Sogleich beim Oeffnen der Kolben machten sich die übelriechenden Fettsäuren bemerklich.

Die weitere Untersuchung der gebildeten Producte lieferte zunächst den Beweis für die Abwesenheit des Cholins, insofern ein schwer lösliches Quecksilberdoppelsalz nicht erhalten wurde. Neben viel Salmiak (aus den Resten der quecksilberchloridhaltigen alkoholischen Mutterlaugen) wurde dafür eine ansehnliche Menge von Salzen erhalten, aus denen sich Methyl-, Dimethyl-, Diäthyl- und Trimethyl-Amin isoliren liessen.

Ferner fanden sich, wie aus der Betrachtung der bei Darstellung der Platinsalze auftretenden Zwischenproducte ersichtlich war, neben diesen Salzen noch einige andere Producte, deren Menge indess zu einer Isolirung und Reindarstellung nicht ausreichte. — Neuridin hatte sich in diesem Falle in bemerkbarer Menge nicht gebildet; dafür sollten Methylamin und Dimethylamin bedeutend vorherrschen.

a) Analyse des Methylammonplatinchlorids:

0,4055 gr. Substanz hinterliessen 0,1675 gr. Pt, entsprechend 41,307% Pt.
 $(\text{CH}_3\text{H}_2\text{N HCl})_2\text{PtCl}_4$ verlangt 41,68% Pt.

b) Analyse des Dimethylammonplatinchlorids:

0,4265 gr. Substanz hinterliessen 0,1685 gr. Pt, entsprechend 39,507% Pt.
 $[(\text{CH}_3)_2\text{HN HCl}]_2\text{PtCl}_4$ verlangt 39,36% Pt.

c) Analyse des Diäthylammonplatinchlorids:

0,3610 gr. Substanz hinterliessen 0,1265 gr. Pt, entsprechend 35,04% Pt.
 $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{HN HCl}]_2\text{PtCl}_4$ verlangt 35,053% Pt.

Auch bei diesen Versuche konnten Stoffe, die eine giftige Wirkung auf den Organismus üben, nicht beobachtet werden.

Es wurden deshalb zum Vergleiche einige Därme der gewöhnlichen Fäulniss überlassen und die gefaulte Masse hinterdrein chemisch untersucht. — Indessen, mit Ausnahme des Diäthylamin, wurden im Wesentlichen dieselben Stoffe gefunden, wie im Versuche mit dem reinen Bacillus; nur zeigte die Masse einen ausgeprägten Fäulnissgeruch (nach Indol und Skatol).

Analysen der gewonnenen Producte:

a) 0,3215 gr. Substanz hinterliessen 0,1350 gr. Pt, entsprechend 41,97% Pt.

$[(\text{CH}_3)_2\text{H}_2\text{N HCl}]_2\text{PtCl}_4$ verlangt 41,6%.

b) 0,3110 gr. Substanz hinterliessen 0,1165 gr. Pt, entsprechend 37,492% Pt.

$[(\text{CH}_3)_3\text{N HCl}]_2\text{PtCl}_4$ verlangt 37,28%.

c) 0,1615 gr. Substanz hinterliessen 0,0635 gr. Pt, entsprechend 39,32% Pt.

$[(\text{CH}_3)_2\text{HN HCl}]_2\text{PtCl}_4$ verlangt 39,36%.

4. Einwirkung des Bacillus auf Fleischpepton-Nährlösung.

Da die Abscheidung und Reinigung der Producte bei Culturen des Bacillus auf Nährgelatine, wegen der Schwierigkeit einer vollständigen Entfernung der leimartigen Substanzen, grosse Umstände machte, so wurden Reinculturen des Bacillus auf Fleischinfusum selbst gezüchtet. Der Bacillus gedieh auf

diesen Lösungen sehr gut. Zunächst bildete sich eine kahmige Oberschicht, welche nach einiger Zeit zu Boden sank; hierauf kam eine neue Schicht und das frühere Spiel wiederholte sich im Laufe mehrerer Tage öftere Male. Die Nährflüssigkeit hatte folgende Zusammensetzung:

1000 cbem. Fleischinfusum (aus 250 gr. Fleisch),
 10 gr. Pepton sicc.,
 5 gr. Kochsalz

und Natriumcarbonat bis zur schwach alkalischen Reaction der Flüssigkeit.

Zu den eigentlichen Versuchen wurden 5 Kolben mit je 1500 gr. dieser Mischung verwendet. Die Fäulnisdauer betrug, wie in den früheren Versuchen, allemal 10 Tage. Am Ende dieser Zeit gab der Kolbeninhalt noch immer einen schwachen Geruch nach Fleischbrühe, während derjenige des Indols und Skatols durchaus nicht zu bemerken war. Bei der Verarbeitung der Massen nach Brieger's Gange aber wurden wohl grössere Quantitäten von Salmiak, dagegen nur geringere Mengen organischer Basen erhalten. Nachdem die Flüssigkeit — nach Zusatz einiger Tropfen Salzsäure bis zur sauren Reaction — zur Trockne verdampft und der Rückstand mit absolutem Alkohol extrahirt worden war, wurde ein Theil dieses alkoholischen Extractes abermals eingetrocknet, von Neuem in Wasser gelöst und auf sein Verhalten gegen den Organismus (Meerschweinchen und Kaninchen) geprüft, dabei zeigte sich aber keinerlei Giftwirkung. Bei der Einhaltung des Brieger'schen Isolirungsverfahrens wurden erhalten: Trimethylamin, Diäthylamin und eine Base von der Zusammensetzung des Neuridins. Allerdings waren auch noch die Salze anderer Basen vorhanden, allein nur in so geringer Menge, dass eine Darstellung derselben in analysenreinem Zustande ganz unmöglich war. Vornehmlich schienen noch geringe Mengen Kreatinins zugegen zu sein, die von dem Kreatin des Fleischinfuses herrühren mochten. Die Probe mit Nitroprussidnatrium liess sich wenigstens in diesem Sinne deuten.

Analysen:

a) 0,1370 gr. Substanz hinterliessen 0,0505 gr. Pt, entsprechend 36,861 % Pt.

$[(\text{CH}_3)_3\text{NHCl}]_2\text{PtCl}_4$ verlangt 37,28 %.

b) 0,1950 gr. Substanz hinterliessen 0,0750 gr. Pt, entsprechend 38,461 % Pt.

Neuridinplatinchlorid verlangt 38,49 %.

c) 0,1847 gr. Substanz hinterliessen 0,0647 gr. Pt, entsprechend 35,018 % Pt.

Diäthylammonplatinchlorid verlangt 35,05 %.

d) 0,5130 gr. Substanz hinterliessen 0,2240 gr. Pt, entsprechend 43,66 % Pt.

Platinsalmiak verlangt 43,906 %.

Ob das bezüglich seiner Zusammensetzung mit dem Neuridinplatindoppelsalze übereinstimmende Product wirklich als dieses anzusprechen sei, konnte der geringen Quantität gewonnener Substanz wegen nicht mit Sicherheit erörtert werden. Das nach dem Entfernen des Platins mit Schwefelwasserstoff gewonnene salzsaure Salz gab allerdings mit Pikrinsäure einen dem Neuridinpikrat gleichenden Niederschlag, jedoch schien das Golddoppelsalz der Verbindung leichter löslich zu sein, als das Neuridingolddoppelsalz, ein Umstand, der freilich vielleicht, wie beim Leucin, durch eine geringe Verunreinigung der Substanz erklärlich werden könnte.

Ausser den eben angeführten Producten wurde noch eine geringe Menge eines Platindoppelsalzes gewonnen, das bei der Analyse für das Triäthylammonplatinchlorid stimmende Zahlen lieferte.

0,1450 gr. Substanz hinterliessen 0,0480 gr. Pt, entsprechend 33,104 % Pt.

Triäthylammonplatinchlorid verlangt 33,37 %.

Dieses Platinsalz bildete nadelförmige Krystalle, welche im Wasser äusserst leicht, in Alkohol schwerer löslich waren.

Bei der Abscheidung der Producte, welche durch die Cultur des Bacillus auf Fleisch-Pepton-Gelatine entstanden waren, habe ich mich eines vom bisherigen etwas abweichenden Verfahrens bedient. Es hatte dies seinen Grund darin,

dass erstens die bei der Verarbeitung der Fäulnismassen mit in Lösung gehenden Antheile der leimartigen Substanzen bei Anwendung des Brieger'schen Isolirverfahrens sehr schwer zu entfernen waren, und dass mir zweitens während der bisher beschriebenen Versuche öfter der Verdacht aufgestiegen war, dass die schliesslich isolirten Stoffe gar nicht die ursprünglichen Stoffwechselproducte der Fäulnisbacillen sein möchten, sondern nur Zersetzungsproducte complicirterer Basen, welche in Folge des angewandten Isolirungsverfahrens — namentlich des öfteren Eindampfens mit Salzsäure — zerstört worden seien. Um einigermaßen darüber ins Klare zu kommen, habe ich die alkoholischen Auszüge des schwach sauren Verdampfungsrückstandes eingedampft, mit wenig Wasser aufgenommen, mit Natronlauge alkalisch gemacht und die alkalische Mischung mit Aether ausgezogen. Der Aether nimmt dann aber nur sehr wenig von den basischen Producten auf; die Mischung muss wiederholt mit Aether ausgeschüttelt werden, so oft, dass — falls man nicht mit continuirlich wirkenden Extractionsvorrichtungen arbeitet — sehr viel Aether verbraucht wird. Ich kann daher der Angabe Brieger's, dass man mit Aether den alkalisch gemachten Flüssigkeiten nur wenig Stoffe entziehen kann und dass sich daher diese Methode zur Abscheidung von Plomainen wenig eignet, nur beipflichten.

Ich habe den Aether, welcher die eventuell gelösten basischen Stoffe enthielt, nun wieder über Kalk getrocknet und alsdann durch Einleiten von trockenem Chlorwasserstoff die salzsauren Salze der gelösten Basen zur Abscheidung gebracht. Diese stellten nach dem Absaugen und Trocknen ein reines, weisses Krystallpulver vor, aus welchem durch Platinchlorid reine Doppelsalze gewonnen werden konnten. Ich erhielt bei dieser Art der Behandlung nur Chlorammonium und chlorwasserstoffsäures Methylamin. Es scheint somit, als ob mit der Zunahme der substituierenden Alkylgruppen im Ammoniak die Löslichkeit der Basen in Aether — resp. die Möglichkeit einer Ausschüttelung derselben mit Aether — abnähme. Dafür wurde allerdings das chlorwasserstoffsäure

Methylamin nach diesem Verfahren im Zustande der grössten Reinheit gewonnen.

0,1625 gr. Substanz hinterliessen 0,0675 gr. Pt. entsprechend 41,538% Pt.
Methylammonplatinchlorid verlangt 41,68%.

Durch Ausschütteln der alkalischen Flüssigkeit mit Petroläther konnte derselben nichts Erhebliches mehr entzogen werden.

Bei der Untersuchung der Reinculturen des von Prof. Nauwerck isolirten Bacillus wurden demnach im Grossen und Ganzen dieselben basischen Producte erhalten, wie bei der Untersuchung der Wurst selbst.

Nach den vorliegenden Erfahrungen scheint es mir nun nicht berechtigt, für die Vergiftung durch verdorbene Wurst nur einen einzigen, in allen solchen Fällen wiederkehrenden, specifischen Stoff verantwortlich machen zu wollen; vielmehr wird man die Gesamtheit der bei der Fäulniss von Gewebstheilen auftretenden Fäulnissbasen als Ursache der eigenthümlichen Vergiftungsercheinungen ansehen müssen.

Ob endlich dem von Prof. Nauwerck isolirten Bacillus eine directe Beziehung zur Wurstvergiftung zuzuschreiben ist, muss die Beobachtung weiterer ähnlicher Fälle ergeben. Ein hervorragender specifischer Einfluss auf die Entstehung giftiger Stoffe, gegenüber anderen Fäulnissbacillen, konnte im vorliegenden Falle noch nicht beobachtet werden.

Im Anschluss an die vorstehende Untersuchung möchte ich doch der Bemerkung noch Raum geben, dass die Meinungen darüber wohl sehr getheilt sein können, ob nun alle diese isolirten Stoffe bereits von dem betreffenden Mikroorganismus gebildet worden, oder ob sie nicht vielmehr nur als Zersetzungsproducte — erzeugt durch die zur Isolirung benutzten Reagentien — complicirterer Verbindungen, welche der Bacillus geliefert, gedeutet werden müssen. Für die letztere Ansicht dürfte indessen doch sehr der Umstand sprechen, dass Basen von schädlicher Wirkung auf den Organismus in unserem Falle nicht isolirt werden konnten.

Der Ansicht, dass die substituirten Ammoniake, die ich gewonnen, vielleicht lediglich Zersetzungsproducte waren, wie sie durch die chemischen Operationsmethoden zu entstehen pflegen, möchte ich auf Grund von Erfahrungen, die ich gelegentlich der Darstellung von substituirten Diaminen des Methylens (über welche ich an anderer Stelle berichten werde) gemacht habe, am liebsten zuneigen.

Während nämlich diese Basen im freien Zustande grosse Beständigkeit zeigen, sich namentlich völlig unzersetzt destilliren lassen, werden sie durch Mineralsäuren sofort unter Bildung von Salzen der substituirten Ammoniake zerlegt. Da nun manche der von Brieger aufgefundenen Basen aller Wahrscheinlichkeit nach in die Kategorie der substituirten Diamine gehören, so dürfte wohl das Auftreten von Salzen der substituirten Ammoniake der zersetzenden Wirkung der Salzsäure (welche ja jedes Mal bei der Zerlegung der Quecksilberoder Platindoppelsalze in Freiheit gesetzt wird) auf derartige Verbindungen zuzuschreiben sein.

Dagegen könnte man allerdings auch mit Brieger die Vorstellung hegen, dass giftige Stoffe nur in einer bestimmten Periode des Fäulnissprocesses auftreten, um später von den Mikroorganismen selbst wieder in einfachere und ungiftige zerlegt zu werden.