

Abbau von Gliadin durch den *Bacillus mesentericus vulgatus*.

Von

Emil Abderhalden und O. Emmerling.

(Aus dem I. Chemischen Institute der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 19. März 1907.)

Bei der eigenartigen Veränderung des Mehles, welche bei der Bildung des sogenannten fadenziehenden Brotes auftritt, spielen Vertreter aus der Gruppe des *Bacillus mesentericus* eine Rolle. Es schien uns nicht ohne Interesse, zu verfolgen, in welcher Art, und in welchem Umfange die genannte Bakterienart die im Mehl vorhandenen Eiweißkörper angreift und abbaut. Wir wählten das Gliadin, dessen Zusammensetzung wir kennen,¹⁾ als Nährmaterial. Dieses Protein wurde in Quantitäten von je 50 g mit 500 ccm Wasser übergossen und damit durchgeknetet. Zu dieser Mischung setzten wir 0,5 g Soda, 0,5 g Kaliumphosphat, 0,2 g Magnesiumsulfat und 0,1 g Chlorcalcium. Die ganze Masse wurde nun sterilisiert und mit einer Reinkultur von *Bacillus mesentericus vulgatus* geimpft. Drei solche Versuche nahmen wir gleichzeitig in Arbeit. Beim Stehen im Brutraum fand ganz allmählich eine Lösung der zähen Masse statt. Nach 14 Tagen wurde der verflüssigte Teil abgegossen, der Rückstand wiederum mit Wasser und Nährsalzen versetzt und von neuem geimpft. Nach 6 Wochen war das Gliadin bis auf kleine Reste verschwunden. Der Versuch wurde nun abgebrochen, die Lösung mit der früher schon abgegossenen vereinigt, filtriert, mit verdünnter Salzsäure sorgfältig neutralisiert und darauf unter vermindertem Druck bei einer 40° des Wasserbades nicht übersteigenden Temperatur möglichst stark eingedampft. Das Destillat zeigte intensiven Geruch nach flüchtigen Fettsäuren und auch der Destillationsrückstand roch sehr stark nach solchen. Um festzustellen, ob sich bei dem Abbau

¹⁾ Emil Abderhalden und Franz Samuely, Die Zusammensetzung des «Gliadins» des Weizenmehles, Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 276, 1905.

des Gliadins auch Aminosäuren gebildet hatten, übergossen wir den Destillationsrückstand mit 750 cem absolutem Alkohol und leiteten bis zur Sättigung trockene gasförmige Salzsäure ein. Wir vermieden durch Einstellen in Eiswasser eine stärkere Erwärmung. Nach Eindampfen der vorher von den ungelösten Salzen abfiltrierten Lösung unter vermindertem Druck wiederholten wir den ganzen Prozeß noch zweimal. Schließlich lösten wir den Rückstand, der die salzsauren Ester der Aminosäuren enthalten sollte, in Äthylalkohol und brachten die Lösung auf ein bestimmtes Volumen. In einem aliquoten Teile stellten wir durch Titration den Gehalt an Salzsäure fest und setzten nun durch Zusatz von etwas weniger als der berechneten Menge von Natriumalkoholat die Ester in Freiheit. Das ausgeschiedene Kochsalz wurde abzentrifugiert und die klare alkoholische Lösung, welche einen intensiven Geruch nach Fettsäureestern aufwies, zunächst bei einem Druck von 12 mm bis zu 100⁰ des Wasserbades destilliert. Das Destillat fingen wir in einer sehr sorgfältig gekühlten Vorlage auf. Es wurde sofort mit wässriger Salzsäure durchgeschüttelt und dann zur Trockene verdampft. Den Rückstand, der zum größten Teil aus salzsauren Aminosäuren bestand, trockneten wir über Kalk und Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz. Das erhaltene, leicht gelblich gefärbte Produkt wog 3,1224 g. 1 g des Rohproduktes veresterten wir in der gewohnten Weise unter Anwendung der fünffachen Gewichtsmenge Äthylalkohol. Nach dem Einimpfen eines Kryställchens von Glykokollesterchlorhydrat und längerem Stehen bei 0⁰ trat Abscheidung von Krystallen ein. Die Menge des isolierten Glykokollesterchlorhydrates betrug nach 48 Stunden 0,1244 g. Es schmolz gegen 144⁰ (korr.). Den Rest der gewonnenen salzsauren Aminosäuren kochten wir zur Entfernung der Salzsäure mit überschüssigem, gelbem Bleioxyd. Nach Abscheidung des gelösten Bleis durch Schwefelwasserstoff und Einengen des Filtrates vom Schwefelblei konnten wir Leucin in ganz geringen Mengen und Alanin nachweisen. Die Menge des letzteren betrug auf das ganze Gewicht der Fraktion berechnet 1,0 g. Das isolierte Alanin zersetzte sich gegen 295⁰ (korr.). Die völlig eingedampfte Lösung, sowie

die abgeschiedenen Krystallmassen kochten wir mit Alkohol aus. Es gingen nur geringe Mengen einer eigenartig riechenden Substanz in Lösung. Prolin konnten wir nicht auffinden.

Den Rest der Ester destillierten wir bei 0,5 mm Druck in zwei Fraktionen, und zwar bis 105° und bis 180° des Ölbadens. Die erste Fraktion wog 5 g. Sie wurde durch Kochen mit der fünffachen Menge Wasser in der gewohnten Weise verseift. Beim Einengen der Lösung schieden sich bald Krystalle von Leucin ab. Wir erhielten 2 g reines Leucin. Der Rest dürfte Alanin und Aminovaleriansäure enthalten haben. Alle Krystallfraktionen kochten wir mit Alkohol aus, um etwa vorhandenes Prolin nachzuweisen. Beim Abdampfen der alkoholischen Lösung hinterblieb ein geringer Rückstand, der den charakteristischen Geruch des Pyrrolidins besaß. Eine genauere Identifizierung war wegen der geringen Ausbeute unmöglich.

Die letzte Fraktion der Esterdestillation wog 15,2 g. Sie wurde mit verdünnter Salzsäure geschüttelt und zur Trockene verdampft. Den Rückstand nahmen wir in wenig Wasser auf und leiteten gasförmige Salzsäure bis zur Sättigung ein. Beim Stehen auf Eis erstarrte bald die ganze Masse. Das ausgeschiedene Produkt erwies sich als salzsaure Glutaminsäure. Ihre Menge betrug 6,0 g. Phenylalanin und Asparaginsäure haben wir nicht gesucht.

Unsere Untersuchung zeigt, daß ganz offenbar der Abbau des Gliadins zu den Fettsäuren und zu weiteren stickstofffreien Abbauprodukten in der Weise erfolgt ist, daß der *Bacillus mesentericus* mit Hilfe seiner Fermente das Protein seiner Nahrung zunächst zu den Aminosäuren aufgespalten hat. Höchstwahrscheinlich setzt erst bei diesen der weitere Abbau ein. Die Mengen der von uns aufgefundenen Aminosäuren sind verhältnismäßig sehr geringe. An Glutaminsäure z. B. fanden wir nicht einmal den zehnten Teil der im Ausgangsmaterial enthaltenen Menge wieder. An diesem Resultat ist ohne Zweifel die lange Dauer des Versuches schuld. Wir werden unsere Schlüsse durch weitere, weniger lang dauernde Versuche sichern.