

# MILCHWIRTSCHAFTLICHE FORSCHUNGEN

## ZEITSCHRIFT FÜR MILCHKUNDE UND MILCHWIRTSCHAFT EINSCHLIESSLICH DES GESAMTEN MOLKEREIWESENS

IM AUFTRAGE DES REICHSKURATORIUMS  
FÜR MILCHWIRTSCHAFTLICHE FORSCHUNGSANSTALTEN

UND UNTER MITWIRKUNG VON

PROF. DR. BONGERT, BERLIN, GEH. REG.-RAT DR. BOSE, MINISTERIALDIRIGENT IM REICHSMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG UND LANDWIRTSCHAFT, PROF. DR. BÜNGER, KIEL, GEH. MED.-RAT PROF. DR. CZERNY, BERLIN, PROF. DR. DEMETER, WEIHENSTEPHAN, GEH. REG.-RAT PROF. DR. JUCKENACK, BERLIN, PROF. DR. KIEFERLE, WEIHENSTEPHAN, PROF. DR. MARTINY, HALLE A. D. S., PROF. DR. MOHR, KIEL, PROF. DR. SCHWARZ, KIEL, LANDWIRTSCHAFTSRAT ZEILER, WEIHENSTEPHAN

HERAUSGEGEBEN

VON

**DR. W. GRIMMER**

PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT KÖNIGSBERG I. PR.

---

*Sonderabdruck aus 20. Band. 3. Heft*

---

**W. Grimmer und Bruno Wauschkuhn:**  
**Beiträge**  
**zur Biochemie der Mikroorganismen. VIII.**  
Der Abbau des Tyrosins durch verschiedene Bakterien



SPRINGER-VERLAG  
BERLIN HEIDELBERG GMBH

1939

Milchwirtsch.  
Forsch.

Gedruckt mit Genehmigung der Hohen  
Naturwissenschaftlichen Fakultät der Albertus-  
Universität zu Königsberg i/Pr.

Referent: Professor Dr. Grimmer

Korreferent: Professor Dr. Sonn.

Tag der mündlichen Prüfung: 26. 6. 1939.

- - - -

# MILCHWIRTSCHAFTLICHE FORSCHUNGEN

## ZEITSCHRIFT FÜR MILCHKUNDE UND MILCHWIRTSCHAFT EINSCHLIESSLICH DES GESAMTEN MOLKEREIWESENS

IM AUFTRAGE DES REICHSKURATORIUMS  
FÜR MILCHWIRTSCHAFTLICHE FORSCHUNGSANSTALTEN  
UND UNTER MITWIRKUNG VON

PROF. DR. BONGERT, BERLIN, GEH. REG.-RAT DR. BOSE, MINISTE-  
RIALDIRIGENT IM REICHSMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG UND  
LANDWIRTSCHAFT, PROF. DR. BÜNGER, KIEL, GEH. MED.-RAT PROF.  
DR. CZERNY, BERLIN, PROF. DR. DEMETER, WEIHENSTEPHAN,  
GEH. REG.-RAT PROF. DR. JUCKENACK, BERLIN, PROF. DR. KIEFERLE,  
WEIHENSTEPHAN, PROF. DR. MARTINY, HALLE A. D. S., PROF. DR.  
MOHR, KIEL, PROF. DR. SCHWARZ, KIEL, LANDWIRTSCHAFTSRAT  
ZEILER, WEIHENSTEPHAN

HERAUSGEGEBEN  
VON

**DR. W. GRIMMER**

PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT KÖNIGSBERG I. PR.

---

*Sonderabdruck aus 20. Band. 3. Heft*

---

**W. Grimmer und Bruno Wauschkuhn:**  
**Beiträge**  
**zur Biochemie der Mikroorganismen. VIII.**  
Der Abbau des Tyrosins durch verschiedene Bakterien



SPRINGER-VERLAG BERLIN HEIDELBERG GMBH

1939

Milchwirtsch.  
Forsch.

ISBN 978-3-662-31467-8      ISBN 978-3-662-31674-0 (eBook)  
DOI 10.1007/978-3-662-31674-0

Die Zeitschrift *Milchwirtschaftliche Forschungen* erscheint zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden von 40—50 Bogen Umfang vereinigt werden.

Die einlaufenden, zur Publikation angenommenen Arbeiten gelangen in der Reihenfolge des Eingangs so schnell wie irgend möglich zur Veröffentlichung.

Der Autor erhält einen Unkostensatz von RM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchsthalle RM 30.— für eine Arbeit.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht, und zwar bis zum 31. Dezember desjenigen Kalenderjahres, das auf das Jahr des Erscheinens folgt. Hieraus ergibt sich, daß grundsätzlich nur Arbeiten angenommen werden können, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke unentgeltlich. Weitere 160 Exemplare werden, falls bei Rücksendung der 1. Korrektur bestellt, gegen eine angemessene Entschädigung geliefert. Darüber hinaus gewünschte Exemplare müssen zum Bogennettopreise berechnet werden. Mit der Lieferung von Dissertationsexemplaren befaßt sich die Verlagsbuchhandlung grundsätzlich nicht; sie stellt aber den Doktoranden den Satz zur Verfügung zwecks Anfertigung der Dissertationsexemplare durch die Druckerei.

Manuskriptsendungen werden erbeten an den geschäftsführenden Redakteur

Herrn Professor Dr. W. Grimmer, Königsberg i. Pr., Tragheimer Kirchenstr. 83.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer in Berlin W 9, Linkstr. 22/24

Fernsprecher: 218111.

20. Band.	Inhaltsverzeichnis.	3. Heft.
	<b>Originalientell.</b>	<b>Seite</b>
	Rodenkirchen, Johannes. Über Bakterienantagonismus. I. Mitteilung. Antagonismus zwischen Milchsäurestreptokokken . . . . .	73
	Rodenkirchen, Johannes. Über Bakterienantagonismus. II. Mitteilung. Die antagonistische Wirkung von Buttersäurebacillen gegenüber Milchsäurebakterien . . . . .	82
	M. Seelemann und G. Mantovani. Über die Abortus Bang-Ringprobe (ABR.) und ihre Reichweite bzw. Sicherheit im Vergleich zu anderen serologischen Verfahren. (Mit 1 Textabbildung) . . . . .	95
	Grimmer, W., und Bruno Wauschkuhn. Beiträge zur Biochemie der Mikroorganismen. VIII. Der Abbau des Tyrosins durch verschiedene Bakterien . . . . .	110
	Grimmer, W., und Wolrad Kleinau. Zur Kenntnis der Milchperoxydase . . . . .	131
	<b>Referatenteil.</b>	
Buchbesprechung . . . . .	119	Milchkontrolle . . . . . 144
Milchbildung . . . . .	121	Butterbereitung . . . . . 150
Ernährung der Milchtiere . . . . .	124	Mykologie der Butter . . . . . 151
Milchgewinnung . . . . .	128	Käsebereitung . . . . . 152
Chemie der Milch . . . . .	128	Chemie des Käses . . . . . 153
Physik der Milch . . . . .	134	Mykologie des Käses . . . . . 154
Mykologie der Milch . . . . .	135	Untersuchung von Milch und Milch-
Bakterienbekämpfung . . . . .	142	produkten . . . . . 156
Milch als Nahrung . . . . .	143	

### Autorenverzeichnis des Referatenteiles.

(Die Endzahlen beziehen sich auf die Seiten.)

Adams, J. 151.	Bogart, Ralph 133.	Cholet, A. 151.	Dutcher, R. Adams 161.
Adenot, G. 151.	Braz, M. 135.	Chu, Fu-T'ang 132.	Ehlers, Kurt 131.
Alikaeff, W. A. 126.	Buchan, Andrew 123.	Clark, G. L. 135.	Ehrlich, C. 150.
Allen, L. A. 135, 136, 165.	Buchmann, N. D. 141.	Corran, H. S. 129.	Elliker, P. R. 154.
Altman, A. D. 121.	Burri, R. 164.	Dastur, Noshir Navroji 123.	—, R. P. 137.
Azimov, G. I. 121.	Cardoso, Francisco Antonio 134.	Davis, J. G. 145, 147, 148, 149.	Fleisch, A. 132.
Balsamelli, Filippo 153.	Cary, C. A. 127.	Delaval, H. 155.	Fournier, A. 145.
Bartram, M. T. 165.	Catel, Werner 143.	Dorner, W. 138, 139, 145, 153.	Foxin, W. M. 125.
Beinert, B. 152.	Chalmers, C. H. 161.		Frazler, W. C. 154.
Bever, A. K. van 159.	Chevallier, A. 159.		Frontali, G. 144.
Black, L. A. 165.			Gallay, Wilfred 134.

Fortsetzung des Autorenverzeichnisses siehe III. Umschlagseite!

(Aus dem Institut für Milchwirtschaft der Universität Königsberg i. Pr.)

## Beiträge zur Biochemie der Mikroorganismen. VIII. Der Abbau des Tyrosins durch verschiedene Bakterien.

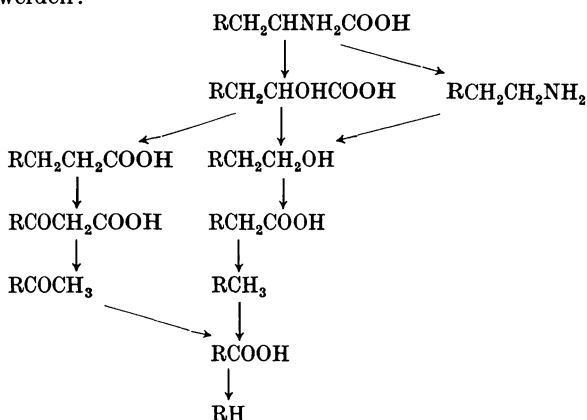
Von

W. Grimmer und Bruno Wauschkuhn\*.

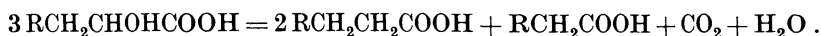
(Eingegangen am 27. Juni 1939.)

### Einleitung.

Die Reifung der Käse wird hauptsächlich durch den bakteriellen Abbau von Eiweiß bedingt. In primärer Phase geht der Abbau in Form einer Hydrolyse unter Bildung verschiedener Abbauprodukte von Albumosen bis zu den Aminosäuren vor sich. Die letzteren können dann von den Mikroorganismen nach folgendem Schema weiter abgebaut werden:



Der Abbau der substituierten Milchsäuren könnte weiterhin durch Oxydoreduktion analog der Propionsäuregärung in folgender Weise vor sich gehen:



Einige dieser von verschiedenen Aminosäuren sich ableitenden Substanzen sind auch im Käse nachgewiesen worden.

Regelmäßig gefunden worden sind Amine. *Winterstein* und *Küng*<sup>1</sup> fanden in einem Emmentaler Käse Tyramin. *Van Slyke* und *Hart*<sup>2</sup> isolierten es aus Cheddar-käse. *Ehrlich* und *Lange*<sup>3</sup> konnten es regelmäßig in Roquefort, Emmentaler und

\* Die vorliegende Arbeit wurde von Herrn *Wauschkuhn* als Doktordissertation benutzt. Inauguraldissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Königsberg.

Camembert nachweisen. Nach *Winterstein* und *Bissegger*<sup>4</sup> scheint sich bei der Reifung des Emmentaler Käses auch Phenyläthylamin zu bilden. Über das Auftreten von Cadaverin und Putrescin im Emmentaler berichten *Winterstein* und *Thöny*<sup>5</sup>. *Nierenstein*<sup>6</sup> fand beide Amine im Cheddarkäse, *Van Slyke*<sup>7</sup> das Putrescin im Cheddarkäse.

Substituierte Milchsäuren sind im Käse bisher einwandfrei nicht nachgewiesen worden. *Ehrlich* und *Lange*<sup>3</sup> vermuten das Auftreten von p-Oxyphenylmilchsäure im Roquefort, Emmentaler und Camembert, konnten sie jedoch nicht einwandfrei identifizieren.

Alkohole, die mehrfach als mikrobielle Abbauprodukte gefunden worden sind, konnten im Käse nicht festgestellt werden.

In größerem Maße wurden stets Fettsäuren festgestellt. Sie verdanken ihre Entstehung zum großen Teile der Desaminierung von Aminosäuren. Im mageren Backsteinkäse fanden *Grimmer*, *Bodschwinn* und *Schützler*<sup>8</sup> Valeriansäure, Propionsäure und in geringen Mengen Butter- und Essigsäure. In Romadourkäse fand *Orla-Jensen*<sup>9</sup> Valeriansäure, Propionsäure, Essigsäure und Ameisensäure. Das Vorhandensein von Buttersäure konnte nicht sicher nachgewiesen werden. Im Glarner Schabziger fand er Buttersäure, Propionsäure und Essigsäure. Die von ihm geäußerte Vermutung, daß diese Säuren zum größten Teil aus Milchzucker gebildet seien, dürfte nach den Befunden von *Grimmer* und Mitarbeitern nicht zutreffen.

*Grimmer* und *Brandt*<sup>10</sup> fanden bei Einwirkung von *Bac. mesentericus* in Symbiose mit *Paraplectrum foetidum* auf Casein ohne Beigabe anderer organischer Substanzen erhebliche Mengen flüchtiger Fettsäuren, daneben noch p-Oxyphenyl-essigsäure, Phenylessigsäure und Bernsteinsäure. Als Abbauprodukte von *Oidium lactis* auf Casein fanden *Grimmer*, *Bodschwinn* und *Lingnav*<sup>11</sup> p-Oxyphenylmilchsäure, die weiter zu p-Oxyphenylessigsäure abgebaut worden war, weiterhin noch flüchtige Säuren wie Buttersäure und Propionsäure. Diese traten aber nur dann auf, wenn den Pilzen als organische Substanz lediglich Casein zur Verfügung stand. Enthielt der Nährboden daneben noch Milchsäure, so traten keine flüchtigen Säuren auf. Ein weiteres Abbauprodukt war die aus der Glutaminsäure entstehende Bernsteinsäure. Bei Einwirkung einer Reinkultur von *Bac. mesentericus vulgatus* auf Casein fanden *Grimmer* und *Wiemann*<sup>12</sup> hauptsächlich Amine wie Putrescin, Cadaverin, Histamin und Tryptamin.

Von besonderer Wichtigkeit für das Studium des Reifungsvorganges sind weiterhin Arbeiten, die sich mit dem Abbau reiner Aminosäuren beschäftigen. Eine der besonders häufig bearbeiteten Aminosäuren ist das Tyrosin, auf die wir uns in der Literaturangabe beschränken wollen, weil wir selbst damit gearbeitet haben.

Nach den bisher in der Literatur niedergelegten Ergebnissen ergibt sich hierüber folgendes Bild:

*Baumann*<sup>13</sup> setzte faulendes Pankreas auf Tyrosin und isolierte als Abbauprodukt die p-Oxyphenylpropionsäure. *Brasch*<sup>15</sup> isolierte dasselbe Abbauprodukt, als er *Bac. putrificus* auf Tyrosin einwirken ließ. Auch *Traetta Mosca*<sup>16</sup> fand es als Abbauprodukt eines Mikroorganismus aus der Gruppe der Fluorescenten. Er will weiter sogar Abbauprodukte gefunden haben, die bis zum Benzol gehen. *Ehrlich*<sup>17</sup> stellte fest, daß *Oidium lactis* Tyrosin zu p-Oxyphenylmilchsäure abbaute. Weiter wies er nach, daß Hefen Tyrosol bildeten. *Sasaki*<sup>18</sup> erhielt bei der Züchtung von *Bact. coli* auf Tyrosin Tyramin, das auch *Ehrlich* und *Lange*<sup>3</sup> als Abbauprodukt durch ein aus Käse isoliertes Stäbchen nachwies, welches anscheinend mit *Bact. casei*  $\alpha$  von *Freudenreich* identisch war. *Hashimoto*<sup>19</sup> prüfte

34 verschiedene Proteusstämmen, die teils aus dem Stuhl von Säuglingen, teils aus Kuhpankreas stammten. Als Abbauprodukt trat vor allem p-Oxyphenylpropionsäure auf, Amin- und Alkoholbildung fehlte. *Kinsaburo Hirai*<sup>20</sup> ließ einen Proteusstamm unter verschiedenen Änderungen des Nährbodens auf Tyrosin einwirken. Er konnte als Abbauprodukt p-Oxyphenylmilchsäure, p-Oxyphenylessigsäure und p-Oxyphenylacrylsäure isolieren. Weiterhin konnte er durch Einwirkung von *Bact. lactis-aerogenes* Tyrosol erhalten<sup>21</sup>.

Diese Resultate können für die Reifungsvorgänge im Käse nicht ohne weiteres herangezogen werden, denn das Abbauvermögen der einzelnen Mikroorganismen ist weitgehend von den Umweltbedingungen abhängig. Neben der Wasserstoffionenkonzentration übt die Zusammensetzung des Nährbodens im weiteren Sinne einen sehr großen Einfluß aus.

So kann nach *Stefenson* und *Gale*<sup>22</sup> die Anwesenheit von Glucose die Desaminierung von *Bact. coli* hemmen. Ähnliches stellten auch *Grimmer* und *Wiemann*<sup>12</sup> fest. Sie fanden, daß die Anwesenheit von Milchzucker den Caseinabbau durch *Bac. mesentericus* ungünstig beeinflusste. Bei Einwirkung von *Oidium lactis* auf Casein fanden *Grimmer*, *Bodschwinna* und *Lingnau*<sup>11</sup>, daß unter Ausschluß von Milchsäure flüchtige Säuren entstanden, die bei Anwesenheit von Milchsäure nicht zu isolieren waren. *Kinsaburo Hirai*<sup>23</sup> fand, daß bei Anwesenheit von Glycerin ein Mikroorganismus p-Oxyphenylmilchsäure bildete, während bei Abwesenheit von Glycerin p-Oxyphenylessigsäure entstand. Nach *Sasaki*<sup>24</sup> bilden Colibakterien bei Abwesenheit von Lactose p-Oxyphenylmilchsäure, bei Gegenwart von Lactose p-Oxyphenyläthylamin. *Otsucko*<sup>25</sup> prüfte den Einfluß verschiedener Metallsalze auf die Bildung bakterieller Abbauprodukte und fand je nach der Art des Kations Förderung oder Hemmung der Fähigkeit, saure Abbauprodukte zu bilden.

Wie aus den eben angeführten Literaturangaben ersichtlich ist, ist die Frage des Eiweißabbaus, namentlich hinsichtlich der Käsureifung sehr wenig geklärt. Weitere Beiträge scheinen deshalb sehr wünschenswert. Die von uns zur Klärung dieser Frage durchgeführten Versuche beschränken sich auf Einwirkungen verschiedener Bakterienreinulturen auf Tyrosin. Es ist hierfür besonders gut geeignet, weil man die nicht abgebaute Aminosäure infolge ihrer Schwerlöslichkeit sehr leicht wiedergewinnen kann. Der Hauptvorteil liegt aber darin, daß man ihre Abbauprodukte auf Grund der Reaktion mit *Millons* Reagens sehr gut verfolgen kann.

Um den im Käse herrschenden Verhältnissen möglichst nahe zu kommen, wurde als Nährmedium Molke verwendet, in der das Tyrosin gelöst wurde. Im Hinblick auf den Einfluß der Zusammensetzung des Nährbodens auf die Art der Abbauprodukte, wurden zum Teil bereits untersuchte Bakterienarten erneut geprüft, da Molke als Nährboden bisher noch nicht verwendet worden war.

### Methodik.

Die *Herstellung des Nährbodens* geschah folgendermaßen: Magermilch wurde auf etwa 25–30° erwärmt, worauf Salzsäure zugegeben wurde, bis das Casein ausflockte, also ein  $p_H$  von 4,5 erreicht war. Nach gelindem Erwärmen wurde



von dem zusammengeballten Casein abfiltriert. Die Molken wurden erhitzt und nach einigem Stehen von dem ausgefallenen Albumin abfiltriert. Anschließend wurde mit Natronlauge oder mit Trinatriumphosphatlösung das  $p_H$  auf etwa 6,5 gebracht und abermals kurz erhitzt. Von einem hierbei entstehenden Niederschlag von Calciumphosphat wurde abfiltriert. Die Molke war frei von Eiweißstoffen, sie enthielt hauptsächlich nur noch Salze und Milchzucker.  $\frac{1}{2}$  l Molke wurde dann zum endgültigen Gebrauch mit  $\frac{1}{2}$  l Wasser und 2 g Tyrosin gemischt. Beim Sterilisieren ging das Tyrosin in Lösung und flockte nur selten wieder aus. Das zu den Untersuchungen verwendete Tyrosin wurde teils aus Blutmehl, teils aus Magerkäse durch Schwefelsäurehydrolyse gewonnen. Das Sterilisieren erfolgte zuerst im Autoklaven. Der Nährboden wurde jedoch, besonders in der Nähe des Neutralpunktes mehr oder minder stark gebräunt und wirkte dann auf das Wachstum der Bakterien, von einigen Ausnahmen abgesehen, stark hemmend. Scheinbar haben sich durch die hohe Erhitzung wachstumshindernde Stoffe gebildet. Der Nährboden wurde deshalb im Dampftopf fraktioniert sterilisiert. Wenn Milchsäure bildende Bakterien geprüft wurden, wurden 2 Reihen von Untersuchungen ausgeführt. Neben dem gewöhnlichen Nährboden wurde einem Nährboden Calciumcarbonat zugesetzt, und zwar in einer Menge, die ausreichte, um alle sich bildende Milchsäure zu neutralisieren. Der Zusatz bedingte stets eine schwach alkalische Reaktion,  $p_H$  7,6—7,8. Nachdem der Nährboden dann mit Reinkulturen beimpft worden war, wurde er in einem Thermostaten bei einer den Mikroorganismen günstigen Temperatur bebrütet. Nach Beendigung der Kultivierung wurde die Kultur auf Reinheit geprüft und der  $p_H$ -Wert gemessen.

*Isolierung der Abbauprodukte.* Die Nährflüssigkeit wurde klar filtriert und ein Teil davon destilliert. Ergab das Destillat bei der Prüfung auf flüchtige Abbauprodukte (Phenol) mit *Millons*-Reagens eine negative Reaktion, so wurde auf dem Wasserbad weitgehend eingeeengt. Der Rückstand wurde mehrere Male mit Alkohol extrahiert, der Alkohol abdestilliert und der Rückstand von neuem mit Alkohol extrahiert. Die hier in Frage kommenden Abbauprodukte sind alle in Alkohol löslich, während das nicht abgebaute Tyrosin, die Mineralsalze und der Milchzucker ungelöst bleiben. Nach dem Abdestillieren des Alkohols wurde der Rückstand mit wenig Wasser aufgenommen und mit Schwefel- oder Phosphorsäure schwach angesäuert. Hierauf wurde im Flüssigkeitsextraktor mit Äther erschöpfend extrahiert, wobei die sauren Abbauprodukte und das Tyrosol in den Äther übergehen (saurer Extrakt). Anschließend wurde bei sodaalkalischer Reaktion extrahiert um das entstandene Tyramin zu isolieren (alkalischer Extrakt). Zur Trennung der sauren Bestandteile vom Tyrosol wurde der Ätherextrakt aus der sauren Lösung mit einer Natriumbicarbonatlösung geschüttelt, so daß die Säuren als Natriumsalze in die wässrige Phase übergehen. Diese wurden dann noch mehrere Male mit Äther geschüttelt, um evtl. übergegangenes Tyrosol wieder zu entfernen. Nachdem die ätherische Lösung über geglühtem Kaliumcarbonat getrocknet und mit Tierkohle entfärbt worden war, wurde der Äther abdestilliert. Das Tyrosol schied sich zunächst ölig ab und krystallisierte meist nach mehreren Stunden bis einigen Tagen. Die die Säuren enthaltende Bicarbonatlösung wurde wieder angesäuert, mit Äther extrahiert und der Extrakt über geglühtem Natriumsulfat getrocknet. Wenn milchsäurebildende Bakterien verarbeitet wurden, so ging die Milchsäure mit in den Äther über. Die durch Natriumbicarbonat abgetrennten sauren Abbauprodukte wurden nach erneuter Extraktion durch Äther und Verdampfen desselben in Wasser aufgenommen und in schwach ammoniakalischer Lösung mit Bleiessig gefällt. Der gut ausgewaschene Niederschlag wurde dann mit Phosphorsäure zerlegt und die Abbauprodukte wieder ausgeäthert.

### Untersuchungsergebnisse.

Geprüft wurden folgende Bakterienstämme, die in bzw. auf Til-siter Käse gefunden worden sind:

1. *Oidium lactis*.
2. *Bac. mesentericus*.
3. *Bac. putrificus*.
4. Mikrokokken mit Calciumcarbonatzusatz.
5. *Bact. coli* mit und ohne Calciumcarbonatzusatz.
6. *Streptobact. casei* mit Calciumcarbonatzusatz.
7. *Streptoc. lactis* mit und ohne Calciumcarbonatzusatz.
8. Milchsäurelangstäbchen mit und ohne Calciumcarbonatzusatz.
9. *Bact. lactis-aerogenes* mit und ohne Calciumcarbonatzusatz.
10. *Bact. proteus*.

#### *Oidium lactis*.

*Versuch 1.* Der Nährboden bestand aus 2 g Tyrosin,  $\frac{1}{2}$  l Wasser und  $\frac{1}{2}$  l Molke.  $p_{\text{H}}$  betrug 5,25. Infolge des niederen  $p_{\text{H}}$ -Wertes konnte er im Autoklaven sterilisiert werden, ohne daß Braunfärbung auftrat. Die Kultivierung erfolgte bei Zimmertemperatur. Nach einigen Tagen bildete sich auf der Oberfläche eine Decke, unter der sich eine Schleimschicht entwickelte. Nach 8 Tagen wurde der Versuch abgebrochen. Der  $p_{\text{H}}$ -Wert war auf 5,95 gestiegen. Um die schleimige Masse filtrieren zu können, wurde die Flüssigkeit auf dem Wasserbade erhitzt. Die weitere Verarbeitung erfolgte dann nach dem in der Methodik angegebenen Verfahren. Tyrosin konnte nicht zurückgewonnen werden. Im sauren Ätherextrakt waren nach 4stündiger Extraktion bereits Krystalle sichtbar. Nach der Behandlung mit Natriumbicarbonat gab der Äther mit *Millons* Reagens eine positive Reaktion, die bereits in der Kälte auftrat. Das spricht für die Anwesenheit von Tyrosol. Nach dem Abdestillieren des Äthers blieben 29 mg einer schmierigen Substanz zurück. Die alkalische Lösung, welche die Säuren enthielt, wurde wieder angesäuert und ausgeäthert. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus Wasser erhielten wir 283 mg Substanz, die in Nadeln, ähnlich dem Tyrosin krystallisierte. Sie wurde mit der entsprechenden Fraktion eines weiteren Versuches vereinigt und mit dieser zusammen gereinigt. Der alkalische Extrakt reagierte gegen *Millons* Reagens negativ, eine Aminbildung war also nicht eingetreten.

*Versuch 2.* Der Nährboden bestand aus 5 g Tyrosin, 1,2 l Molke und 1,2 l Wasser. Das Nährmedium war diesmal stärker sauer und hatte beim Impfen einen  $p_{\text{H}}$ -Wert von 4,65. Die Dauer der Züchtung, die ebenfalls bei Zimmertemperatur durchgeführt wurde, betrug 3 Wochen. Nach 3 Tagen hatte sich auf der Oberfläche bereits eine Decke gebildet. Zur Förderung des Wachstums wurde die Kultur öfter durchgeschüttelt. Der  $p_{\text{H}}$ -Wert betrug nach 3 Wochen 6,68. Aus dem sauren Extrakt beider Kulturen konnten 2,91 g reine Substanz gewonnen werden.

Nach mehrmaligem Umkrystallisieren hatte sie einen Schmelzpunkt von 168,5—169°. Es waren seidenglänzende Nadeln. p-Oxyphenylmilchsäure hat einen Schmelzpunkt von 169° und dieselbe Krystallform. Die Analyse ergab folgende Werte.

37,63 mg Substanz ergeben	81,46 mg CO <sub>2</sub> und	18,59 mg H <sub>2</sub> O
	= 59,04% C	= 5,52% H
23,56 mg Substanz ergeben	51,23 mg CO <sub>2</sub> und	11,64 mg H <sub>2</sub> O
	= 59,30% C	= 5,54% H

Für p-Oxyphenylmilchsäure berechnet:

59,31% C	5,55% H
----------	---------

Aus der Tyrosolfraktion wurden 61 mg einer schmierigen Substanz gewonnen. Nach dem Umkrystallisieren aus Äther und Entfärben mit Tierkohle kamen einige rosettenförmige Krystalle heraus. Sie gaben mit *Millons* Reagens bereits in der Kälte eine positive Reaktion, mit konz. Schwefelsäure trat eine bordeauxrote Färbung auf. Es kann also auf Anwesenheit von Tyrosol geschlossen werden. Eine vollständige Reinigung gelang nicht, so daß eine Analyse unterbleiben mußte.

#### *Bac. mesentericus.*

*Versuch 1.* Der Nährboden bestand aus 2 g Tyrosin,  $\frac{1}{2}$  l Molke und  $\frac{1}{2}$  l Wasser. Um ein schwach alkalisches Nährmedium zu erhalten, wurde noch etwas Calciumcarbonat zugesetzt, wodurch ein  $p_H$  von 7,6 erreicht wurde. Die Kultivierungsdauer betrug 6 Wochen und wurde bei Zimmertemperatur durchgeführt. Der saure Extrakt reagierte gegen *Millons* Reagens positiv. Beim Abtrennen des Tyrosols konnten 20 mg einer schmierigen Substanz gewonnen werden, aus der nach längerem Stehen einige sternchenförmige Krystalle herauskamen. Die Substanz gab mit *Millons* Reagens bereits in der Kälte eine positive Reaktion und mit konz. Schwefelsäure eine bordeauxrote Färbung. Nach dem Umkrystallisieren aus Äther konnten einige Krystalle gewonnen werden, die gerade für einen Schmelzpunkt ausreichten. Die Substanz schmolz bei 85—87°. Es ist also anzunehmen, daß es verunreinigtes Tyrosol darstellte. Das saure Abbauprodukt konnte nicht isoliert werden. Auch aus dem alkalischen Extrakt, der ebenfalls mit *Millons* Reagens positiv reagierte, konnte der geringen Menge wegen nichts isoliert werden.

*Versuch 2.* Es wurde mit demselben Stamm der Versuch in der gleichen Weise wiederholt. Die Kultivierungszeit betrug  $3\frac{1}{2}$  Wochen und wurde wieder bei Zimmertemperatur durchgeführt. Der saure Extrakt reagierte gegen *Millons* Reagens negativ. Säuren und Tyrosol waren also nicht gebildet worden. Der alkalische Extrakt reagierte dagegen sehr stark positiv. Nach dem Abdestillieren des Äthers konnten 200 mg einer Substanz gewonnen werden, die in Nadeln krystallisierte und gegen Lackmus stark alkalisch reagierte. Ein Teil wurde zur Her-

stellung des Platinsalzes genommen. Es konnten jedoch nur 1,835 mg Platinsalz gewonnen werden. Die Analyse ergab 27,6% Pt. Der für Tyraminplatinat errechnete Pt-Gehalt beträgt 28,57% Pt. Der etwas zu niedrige Wert scheint dadurch bedingt zu sein, daß bei der geringen Menge sehr kleine Verunreinigungen bereits einen größeren Fehler bedingen. Mit dem Rest des Tyramins wurde versucht, das Pikrat herzustellen. Das Pikrat muß noch ziemlich unrein gewesen sein, denn es hatte einen Schmelzpunkt von 192—196°, während Tyraminpikrat bei 200° schmelzen soll. Es ist also mit größter Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß *Bac. mesentericus* Tyrosin zu Tyramin abgebaut hatte.

*Bac. putrificus.*

Der Nährboden enthielt 3,5 g Tyrosin, 1 l Wasser und 1 l Molke. Der  $p_H$ -Wert betrug 6,6. Anaerobe Verhältnisse wurden durch Pyrogallol-Sodamischung herbeigeführt. Die Kultivierungszeit betrug 3 Wochen und wurde bei einer Temperatur von 30° durchgeführt. Der  $p_H$ -Wert war auf 6,4 gesunken. Beim Abdestillieren ging eine stark alkalisch reagierende Flüssigkeit über, in der Ammoniak nachgewiesen werden konnte. Sie wurde in salzsaurer Lösung eingedampft. Dabei wurden 813 mg Ammonchlorid gewonnen. Wenn alles Ammoniak aus dem Tyrosin stammt, würde das einer Menge von 2,76 g entsprechen. Mit *Millons* Reagens reagierte das Destillat schwach positiv, es scheinen also geringe Mengen von Phenol oder p-Kresol gebildet worden zu sein. Zur Identifizierung reichte die Menge jedoch nicht aus. Der saure Extrakt reagierte mit *Millons* Reagens stark positiv. Nach dem Ausschütteln mit der Natriumbicarbonatlösung behielt der Äther nur eine schwache positive Reaktion, die bereits in der Kälte auftrat. Nach dem Abdestillieren des Äthers blieben 10 mg einer schmierigen Substanz zurück. Es krystallisierte jedoch auch nach längerem Stehen nichts aus. Da sie mit konz. Schwefelsäure jedoch mit rötlicher Farbe reagierte, können geringe Mengen Tyrosol gebildet worden sein. Die mit Natriumbicarbonat neutralisierte Säure wurde nach dem Ansäuern wieder ausgeäthert. Nach dem Abdunsten des Äthers blieben prismenförmige Krystalle zurück. Nach dem Umkrystallisieren wurden 1,14 g Substanz gewonnen, die einen Schmelzpunkt von 127,5—128° hatte. Sie war in kaltem Wasser ziemlich schwer löslich. Die Löslichkeit war geringer als 1:50. Die Analyse ergab folgende Werte:

44,38 mg Substanz ergeben	105,31 mg CO <sub>2</sub> und	24,16 mg H <sub>2</sub> O
	= 64,71% C	= 6,09% H
23,51 mg Substanz ergeben	56,25 mg CO <sub>2</sub> und	12,69 mg H <sub>2</sub> O
	= 65,25% C	= 6,04% H

Für p-Oxyphenylpropionsäure berechnet:

65,02% C	6,08% H
----------	---------

Aus den Mutterlaugen wurden noch 35 mg p-Oxyphenylpropionsäure gewonnen. Beim weiteren Einengen der Mutterlaugen verblieben dann noch 420 mg Substanz, die sehr stark mit Schmierem verunreinigt war. Beim Aufnehmen mit Äther blieb ein Teil ungelöst zurück, der aus schmierigen Flocken bestand. Das mikroskopische Bild der in Äther löslichen Substanz ergab ein Gemisch von Prismen und nadelförmigen Krystallen. Der Schmelzpunkt lag bei etwa 100°. Da mit Eisenchlorid eine violette Färbung auftrat, bestand die Möglichkeit, daß p-Oxyphenylelessigsäure gebildet worden war. Die Substanz wurde deshalb im Vakuum sublimiert, weil p-Oxyphenylelessigsäure unzersetzlich flüchtig ist. Es setzte sich am Hals des Kolbens eine nadelartig krystallisierende Substanz fest, die bei 108—110° schmolz. Sie reagierte gegen *Millons* Reagens jedoch negativ. Die positiv reagierende Substanz konnte nicht isoliert werden.

#### *Mikrokokken.*

*Versuch 1.* Ein aus Käse isolierter Mikrokokkenstamm, der auf Caseinagar proteolytische Eigenschaften zeigte und Säure bildete, wurde in einen Nährboden geimpft, der aus 2 g Tyrosin,  $\frac{1}{2}$  l Molke,  $\frac{1}{2}$  l Wasser und 14 g Calciumcarbonat bestand. Die Bebrütung erfolgte 5 Wochen bei 30°. Die Kultur war trotz des Calciumcarbonatzusatzes schwach sauer geworden mit einem  $p_{\text{H}}$ -Wert von 6,3. Das Sinken des  $p_{\text{H}}$ -Wertes erklärt sich daraus, daß die Calciumcarbonatschicht von schleimigen Schmierem so eingeschlossen wurde, daß sie mit der gebildeten Säure nicht reagieren konnte. Der saure Ätherextrakt reagierte mit *Millons* Reagens positiv. Nach dem Ausschütteln mit Natriumbicarbonatlösung gab sowohl der Äther als auch die wässrige Phase mit *Millons* Reagens eine positive Reaktion. Tyrosol und das saure Abbauprodukt konnten aber nicht in Krystallform gewonnen werden. Der alkalische Extrakt reagierte stark positiv. Nach dem Abdestillieren des Äthers wurde der Rückstand mit Salzsäure aufgenommen, um das salzsaure Salz des Tyramins zu gewinnen. Es konnten 120 mg Substanz gewonnen werden, die in Nadeln krystallisierte und sich beim Eindampfen immer stark dunkelbraun färbte. Das Tyramin wurde deshalb über das Pikrat gereinigt. Das Pikrat stellte kurze Prismen vor und hatte einen Schmelzpunkt von 196—198°. Da reines Tyraminpikrat einen Schmelzpunkt von 200° hat, und die Krystallform der Substanz mit einem künstlich hergestellten Tyramin sehr viel Ähnlichkeit hatte, liegt die Vermutung nahe, daß diese Substanz Tyramin vorstellte. Das Tyramin wurde nach *Guggenheim*<sup>26</sup> folgendermaßen hergestellt: Tyrosin wurde in einem Bad von *Woodschem* Metall bei 10 mm Hg Druck auf 270° erhitzt. Das Tyrosin spaltet bei dieser Temperatur

CO<sub>2</sub> ab und das Tyramin ist bei diesem Druck und bei dieser Temperatur flüchtig.

*Versuch 2.* Ein zweiter Versuch mit einem aus Käse isolierten farbstoffbildenden Mikrokokkenstamm gab sowohl im sauren, wie im alkalischen Extrakt eine positive Reaktion. Die Abbauprodukte konnten aber nicht identifiziert werden.

#### *Bact. coli.*

*Versuch 1.* Ein aus Milch isolierter Colistamm wurde in einen Nährboden geimpft, der aus 2 g Tyrosin, 1/2 l Molke und 1/2 l Wasser bestand. Die Nährflüssigkeit hatte einen p<sub>H</sub>-Wert von 6,3. Die Bebrütungsdauer betrug 2 1/2 Wochen und wurde bei 30° durchgeführt. Es machte sich hier eine Entfärbung der Molke bemerkbar; dieses deutet auf die Zerstörung von Lactoflavin hin. Von den angewandten 2 g Tyrosin konnten 1,4 g zurückgewonnen werden. Der saure Extrakt reagierte gegen *Millons* Reagens ziemlich stark positiv, während der alkalische Extrakt negativ reagierte. Tyrosol war nicht gebildet worden. Aus dem sauren Extrakt fiel mit Bleiessig ein Niederschlag; das Abbauprodukt konnte jedoch nicht identifiziert werden.

*Versuch 2.* Der Nährboden bestand aus 2 g Tyrosin, 1/2 l Molke, 1/2 l Wasser und 14 g Calciumcarbonat. Die Kultivierung dauerte 4 Wochen und wurde wieder bei 30° durchgeführt. Es konnten 1,2 g Tyrosin zurückgewonnen werden. Der alkalische Extrakt reagierte gegen *Millons* Reagens wieder negativ, während der saure Extrakt sehr stark positiv reagierte. Beim Schütteln des sauren Extraktes mit Natriumbicarbonatlösung behielt der Äther eine positive Reaktion. Nach dem Abdunsten des Äthers blieb eine schmierige Substanz zurück, die mit *Millons* Reagens in der Kälte positiv reagierte und mit konz. Schwefelsäure eine schwach rötliche Färbung ergab. Dieses spricht für Anwesenheit von Tyrosol. Krystalle kamen jedoch auch nach längerem Stehen nicht heraus. Das saure Abbauprodukt wurde durch Fällung mit Bleiessig von der gebildeten Milchsäure getrennt. Nach Zerlegen des Niederschlages mit Schwefelwasserstoff gab die Substanz mit Eisenchlorid eine Violettfärbung. Es konnten einige nadelförmige Krystalle gewonnen werden, deren Menge gerade für die Feststellung eines Schmelzpunktes ausreichten. Die Substanz begann bei 142° zu schmelzen und war bei 145—146° vollständig geschmolzen. Es ist also anzunehmen, daß diese Substanz p-Oxyphenylelessigsäure darstellte.

Da nach *Sasaki*<sup>18</sup> *Bact. coli* in der Hauptsache Tyramin bilden soll, und es hier bei beiden Versuchen nicht aufgetreten war, wurde der Versuch mit dem von *Sasaki*<sup>18</sup> angegebenen künstlichen Nährboden wiederholt. Der Nährboden hatte folgende Zusammensetzung: 5,0 g KCl, 2,0 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,1 g MgSO<sub>4</sub>, 1,0 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 2,0 g Glycerin, 2,0 g

Tyrosin und 1000 ccm Wasser. Der Abbau war sehr gering. Von den angewandten 2 g Tyrosin konnte 1,6 g nach einer Bebrütungsdauer von 6 Wochen bei 30° zurückgewonnen werden. Die Nährflüssigkeit wurde destilliert. Da das Destillat mit *Millons*-Reagens ziemlich stark positiv reagierte, wurde es bei Natron-alkalischer Reaktion eingengt und nach Zugabe von Salzsäure wieder überdestilliert. Mit Bromwasser wurde dann das Phenoltetrabromid hergestellt. Die Ausbeute war sehr gering, es konnten nur 45 mg Phenoltetrabromid gewonnen werden. Der alkalische Extrakt gab auch hierbei eine negative *Millonsche* Reaktion, während der saure Extrakt positiv reagierte. In reinem Zustande konnte die Substanz nicht gewonnen werden. Jedenfalls sind auch hier wie in den vorausgegangenen Versuchen nur saure Abbauprodukte neben Phenol gebildet worden.

#### *Streptobact. casei.*

Es wurde aus Tilsiter Käse ein Stamm von *Streptobact. casei* isoliert und in einen Nährboden geimpft, der aus 2 g Tyrosin,  $\frac{1}{2}$  l Molke,  $\frac{1}{2}$  l Wasser und 14 g Calciumcarbonat bestand. Die Milchsäurebildung, die man sehr gut an der Kohlensäureentwicklung aus dem Calciumcarbonat verfolgen konnte, war zuerst sehr spärlich; erst vom 4. Tage an wurde sie etwas stärker. Nach 6wöchiger Bebrütung bei 30° wurde die Kultivierung abgebrochen. Der alkalische Extrakt reagierte gegen *Millons* Reagens nur sehr schwach, der saure Extrakt dagegen ziemlich stark positiv. Tyrosol war nicht entstanden. Das saure Abbauprodukt wurde mit Bleiessig von der gebildeten Milchsäure getrennt. Es konnten 110 mg Substanz gewonnen werden. Sie wurde durch mehrmaliges Umkrystallisieren aus Wasser gereinigt. Es kamen dann grobe Nadeln heraus, die die Form der p-Oxyphenylpropionsäure hatten. Der Schmelzpunkt lag bei 124—126°. Die Menge war jedoch zu gering, um eine Analyse zu gestatten. Da die p-Oxyphenylpropionsäure bei 128—129° schmilzt, ist anzunehmen, daß *Streptobact. casei* p-Oxyphenylpropionsäure gebildet hat.

#### *Milchsäurestreptokokken.*

*Versuch 1.* Der Nährboden bestand aus 2 g Tyrosin,  $\frac{1}{2}$  l Molke und  $\frac{1}{2}$  l Wasser. Der  $p_H$ -Wert des Nährmediums betrug 6,1. Die Nährflüssigkeit wurde mit einem aus Säurewecker isolierten *Streptoc. lactis*-Stamm beimpft. Die Bebrütung wurde  $5\frac{1}{2}$  Wochen bei Zimmertemperatur durchgeführt. Das Wachstum war sehr gut, der  $p_H$ -Wert war bis 4,49 gesunken. Es wurden 1,7 g Tyrosin zurückgewonnen. Sowohl der saure als auch der alkalische Extrakt gaben mit *Millons* Reagens nur eine ganz schwach positive Reaktion. Eine Isolierung evtl. vorhandener Abbauprodukte war nicht möglich.

*Versuch 2.* Der Nährboden bestand aus 2 g Tyrosin,  $\frac{1}{2}$  l Molke,  $\frac{1}{2}$  l Wasser und 14 g Calciumcarbonat. Die Nährflüssigkeit wurde mit dem gleichen Streptoc. lactis-Stamm beimpft und 4 Wochen bei Zimmertemperatur bebrütet. Auch bei diesem zweiten Versuch gab sowohl der saure als auch der alkalische Extrakt mit *Millons* Reagens nur eine schwach positive Reaktion. Eine Isolierung evtl. vorhandener Abbauprodukte war nicht möglich.

*Milchsäurelangstäbchen (Thermobakterien).*

*Versuch 1.* Der Nährboden bestand aus 2 g Tyrosin,  $\frac{1}{2}$  l Molke und  $\frac{1}{2}$  l Wasser. Der  $p_{\text{H}}$ -Wert betrug 6,3. Die Nährflüssigkeit wurde mit einem aus Milch isolierten Milchsäurelangstäbchenstamm beimpft und bei einer Temperatur von 45° bebrütet. Vor der endgültigen Beimpfung wurden die Thermobakterien 2mal in Passagen in demselben Nährmedium gezüchtet. Das Wachstum war anfangs sehr gut. Der Nährboden war getrübt und man konnte im hängenden Tropfen sehr viel Keime feststellen. Nach einigen Tagen setzte sich die Trübung zu Boden und die Flüssigkeit wurde klar. Nach einwöchiger Bebrütungsdauer wurde die Nährflüssigkeit aus dem Thermostaten herausgenommen und bei Zimmertemperatur weitergezüchtet. Der  $p_{\text{H}}$ -Wert war bis 4,55 gesunken. Der saure Extrakt gab nur eine schwach positive Reaktion, während der alkalische Extrakt negativ reagierte. Nach dem Schütteln des sauren Extraktes mit Natriumbicarbonat und dem darauffolgenden Ausäthern der angesäuerten Natriumbicarbonatlösung war die Reaktion so schwach, daß eine weitere Verarbeitung zwecklos war.

*Versuch 2.* In einem Nährboden, der aus 2 g Tyrosin,  $\frac{1}{2}$  l Molke,  $\frac{1}{2}$  l und 14 g Calciumcarbonat bestand, wurde derselbe Thermobakterienstamm geimpft. Das Wachstum war hierin ziemlich schlecht. Abbauprodukte waren nicht festzustellen.

*Bact. lactis-aerogenes.*

*Versuch 1.* Ein aus Käse isolierter Lactis-aerogenes-Stamm wurde in einen Nährboden geimpft, der aus 2 g Tyrosin,  $\frac{1}{2}$  l Molke und  $\frac{1}{2}$  l Wasser bestand. Die Kultivierung erfolgte 14 Tage bei einer Temperatur von 30°. Der  $p_{\text{H}}$ -Wert war bis 5,15 gefallen. Die Molke war ziemlich weitgehend entfärbt worden. Dieses deutet auf eine Zerstörung von Lactoflavin hin. Von den angewandten 2 g Tyrosin wurden 1,5 g zurückerwonnen. Der saure Ätherextrakt reagierte gegen *Millons* Reagens positiv, der alkalische Extrakt negativ. Tyramin war also nicht entstanden. Nach der Behandlung des sauren Extraktes mit Natriumbicarbonatlösung reagierte die ätherische Lösung noch positiv, schien also Tyrosol zu enthalten. Beim Abdunsten des Äthers blieb eine schmierige Substanz zurück, die mit *Millons* Reagens in der Kälte



positiv reagierte und mit konz. Schwefelsäure eine rote Färbung ergab. Es krystallisierte jedoch kein Tyrosol aus. Das saure Abbauprodukt war im Gemisch mit größeren Milchsäuremengen und wurde mit Bleiessig gefällt. Zum Identifizieren reichte die Menge aber nicht aus. Es wurde deshalb noch ein Versuch mit 5 g Tyrosin angesetzt.

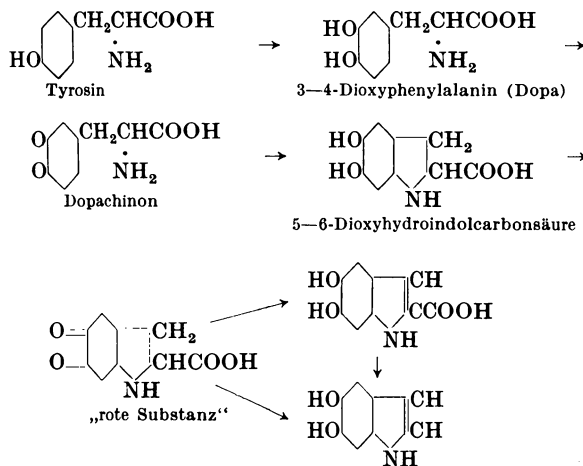
*Versuch 2.* Der Nährboden bestand aus 5 g Tyrosin, 1,2 l Molke und 1,2 l Wasser. Der  $p_H$ -Wert betrug 6,5. Nach 7 wöchiger Bebrütung bei 30° war er auf 5,15 gefallen. Die Nährflüssigkeit wurde destilliert, wobei das Destillat mit *Millons* Reagens schwach positiv reagierte. Es sind scheinbar geringe Mengen Phenol gebildet worden. Von den 5 g Tyrosin konnten 2,6 g zurückgewonnen werden. Der saure Extrakt reagierte gegen *Millons* Reagens stark positiv, während der alkalische Extrakt nur eine schwach positive Reaktion zeigte. Nach dem Ausschütteln des sauren Extraktes mit Natriumbicarbonatlösung konnten aus dem Äther 112 mg Tyrosol gewonnen werden, das nach dem Umkrystallisieren einen Schmelzpunkt von 89,5° hatte. Es wurde zur weiteren Reinigung mit der aus einer anderen Aerogenes-Kultur gewonnenen Tyrosolfraction vereinigt. Nach dem Ansäuern der Natriumbicarbonatlösung wurde wieder ausgeäthert. Beim Abdestillieren des Äthers schieden sich blättchenförmige Krystalle ab; es konnten 405 mg Substanz gewonnen werden, die nach mehrmaligem Umkrystallisieren einen Schmelzpunkt von 185° hatte. Es war eine ziemlich starke Säure, die aber gegen *Millons* Reagens negativ reagierte. Sie wurde als Bernsteinsäure identifiziert, die aus Milchzucker gebildet worden war und im Rahmen der Arbeit nicht weiter interessierte. Das Filtrat von der Bernsteinsäure wurde nun mit Bleiessig behandelt, um die Abbauprodukte des Tyrosins von gleichzeitig vorhandener Milchsäure, die aus Milchzucker gebildet war, zu trennen. Hierbei fiel allerdings auch Bleisuccinat mit aus. Nach der Zerlegung des Bleiniederschlags mit Schwefelwasserstoff, wurde das Filtrat vorsichtig eingeeengt, wobei zunächst Bernsteinsäure als in Wasser schwer löslich ausfiel. Durch weiteres Einengen der Mutterlauge und häufiges Umkrystallisieren der Abscheidungen, wobei aber auch sehr starke Verluste an p-Oxyphenylverbindungen eintraten, konnten geringe Mengen einer in Nadeln krystallisierenden Substanz gewonnen werden, die mit Eisenchlorid unter Violettfärbung reagierte. Der Schmelzpunkt lag bei 144—146°. p-Oxyphenylelessigsäure schmilzt bei 148° und krystallisiert in Nadeln; sie gibt auch die Reaktion mit Eisenchlorid.

*Versuch 3.* Um den Abbau bei konstanter Reaktion im alkalischen Medium zu verfolgen, wurden noch 2 Versuche mit Calciumcarbonatzusatz angestellt. Der Nährboden bestand aus 2 g Tyrosin,  $\frac{1}{2}$  l Molke,  $\frac{1}{2}$  l Wasser und 14 g Calciumcarbonat. Der  $p_H$ -Wert betrug 7,6. Die Kultivierungszeit betrug 14 Tage bei 30°. Der saure Extrakt gab eine



30° durchgeführt. Nach etwa 3 Wochen fing die Nährflüssigkeit an schwach braun zu werden, nahm dann eine rötlichbraune und zuletzt eine schwarzbraune Farbe an. Beim Eindampfen blieb eine schwarze Schmiere zurück. Der alkoholische Extrakt gab nur andeutungsweise eine *Millonsche* Reaktion. Der unlösliche Rückstand wurde nunmehr mit Wasser aufgenommen und mit Alkohol versetzt. Der größte Teil der Substanz fiel wieder schmierig aus, die alkoholische Lösung reagierte kaum mit *Millons* Reagens. Jetzt nahmen wir einen Teil der Schmierer mit Wasser auf und gaben bei ammoniakalischer Reaktion Bleiessig hinzu. Es fiel ein flockiger Niederschlag, aus dem keine mit *Millons* Reagens positiv reagierenden Abbauprodukte zu isolieren waren. Die Schwarzfärbung der Kulturflüssigkeit legte die Annahme nahe, daß aus dem Tyrosin Melanine gebildet worden waren. Melanine sind aber als Endprodukte einer Tyrosinasewirkung zu betrachten, denen eine Reihe anderer Substanzen, die aus dem Tyrosin gebildet werden, vorangeht.

Nach Untersuchungen von *Raper*<sup>27</sup> wird zunächst das Tyrosin in 3-4-Dioxyphenylalanin (Dopa) übergeführt, das namentlich bei schwach alkalischer Reaktion in das entsprechende Chinon übergeht. Weiterhin schließt sich die Seitenkette zu einem Pyrrolring, der dann dehydriert wird. Der Reaktionsverlauf ist nach *Raper* folgender:



Die sog. „rote Substanz“ ist das erste sichtbare Reaktionsprodukt der Tyrosinasewirkung. Zur weiteren Reaktion ist dann das Ferment nicht mehr notwendig. Aus der roten Substanz kann dann weiter, je nach Umständen, die Carbonsäure oder durch CO<sub>2</sub>-Abspaltung die Base entstehen. Diese beiden Substanzen können dann an der Luft sehr leicht weiter oxydiert werden und sind als Vorläufer der Melanine anzusehen. Wir nehmen an, daß die bei der Bleiessigfällung mit Ammoniak bei *Bact. lactis aerogenes* beobachtete Färbung auf diese rote Substanz zurückzuführen ist.

Unsere weiteren Untersuchungen hatten nun den Zweck, eines dieser Umwandlungsprodukte des Tyrosins, wenn möglich, zu isolieren oder doch wenigstens durch eine charakteristische Reaktion nachzuweisen. Um Vergleichsmaterial zur Verfügung zu haben, stellten wir 3-4-Dioxyphenylalanin nach den Angaben von *Hirai*<sup>28</sup> her.

Glycinanhydrid wurde mit Vanillin unter Zusatz von wasserfreiem Natriumacetat und Essigsäureanhydrid im Woodschen Metallbad 6½ Stunden auf 160 bis 170° erhitzt. Das Kondensationsprodukt, Di-3-acetoxy-4-methoxybenzal-glycinanhydrid wurde dann durch Kochen mit rotem Phosphor und Jodwasserstoffsäure am Rückflußkühler reduziert. Das gebildete Dopa wurde mit Bleiacetat in ammoniakalischer Lösung gefällt und der Niederschlag mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Die Lösung wurde dann nach Vertreiben des Schwefelwasserstoffs durch Kohlensäure und nach Zugabe von schwefliger Säure im Wasserstoffstrom eingengt, wobei das ziemlich schwer lösliche Dopa ausfiel.

Dopa gibt mit sehr stark verdünnter Eisenchloridlösung eine smaragdgrüne Färbung, die bei Zugabe von Ammoniak in Rotviolett und von Natronlauge in Granatrot übergeht; eine Reaktion, die für alle Ortho-Diphenole charakteristisch ist. Wir erhielten folgende Reaktionen: Bei tropfenweiser Zugabe von sehr verdünnter Eisenchloridlösung trat zuerst Blaufärbung auf, dann ging die Farbe in Grün über, das sich bis zu einem Maximum verstärkte, um nach weiterem Zusatz von Eisenchlorid wieder abzublauen. Nach Zugabe von Ammoniak schlug die grüne Farbe über Blau in Violett um. Natronlauge bedingte eine dunkelrote Färbung. Dieser Unterschied wird jedoch nur von der Stärke der Lauge bedingt; denn wenn man eine ganze verdünnte Natronlauge verwendet, so tritt auch erst eine blaue, dann violette und zum Schluß eine dunkelrote Färbung auf. Gibt man zur Dopalösung zuviel Eisenchlorid hinzu, so daß die grüne Farbe bereits wieder abgeblaßt ist, so tritt mit Ammoniak keine Violettfärbung, sondern nur eine Braunfärbung auf. Fügt man zu der mit sehr wenig Eisenchlorid blau gefärbten Lösung Ammoniak hinzu, so tritt eine rötliche Färbung auf.

Mit einem Teil des zerlegten Bleiessigniederschlages, der von der Proteuskultur noch zur Verfügung stand, machten wir die Reaktion auf Dopa und erhielten mit Eisenchlorid und Ammoniak eine Violettfärbung. Um diese Verhältnisse näher zu untersuchen, setzten wir einen neuen Versuch an, um hauptsächlich nach Dopa zu fahnden.

*Versuch 2.* Der Nährboden bestand aus 7 g Tyrosin, 1,75 l Molke, 1,75 l Wasser und 5 g Calciumcarbonat; er hatte ein  $p_H$  von 7,6. Zur Beimpfung wurde derselbe Proteusstamm wie bei dem vorhergehenden Versuch verwendet. Die Bebrütung erfolgte bei 30°. Als nach 3 Wochen die ersten Anzeichen einer Braunfärbung sichtbar wurden, unterbrachen wir die Bebrütung.

Um weitere Oxydationen zu verhindern, wurde zu der mit Essigsäure angesäuerten Nährlösung Natriumbisulfid zugegeben. Zu der sauren Lösung wurde jetzt Bleiacetat zugegeben, um die Eiweißstoffe zu entfernen. Nach dem Filtrieren fiel mit Ammoniak ein dicker flockiger Niederschlag, der abzentrifugiert wurde. Nach dem Zerlegen mit Schwefelwasserstoff und Eindampfen im Wasserstoffstrom fiel zunächst Milchzucker aus, der durch Bleiessig ebenfalls fällbar ist. Das

Filtrat gab mit Eisenchlorid eine sehr schöne Grünfärbung, die nach Zugabe von Ammoniak in Violettt überging. Es war also anzunehmen, daß Dopa gebildet worden war. Da die Lösung daneben noch andere Abbauprodukte enthielt, die eine positive *Millonsche* Reaktion gaben, wurde die Flüssigkeit mit Phosphorsäure angesäuert und im Flüssigkeitsextraktor ausgeäthert. Der Extraktionsrückstand wurde mit Bleiacetat versetzt, um die Phosphorsäure zu entfernen. Dann wurde Dopa durch Zugabe von Ammoniak ausgefällt. Es war jedoch wieder Milchsucker mitgefallen. Die durch Schwefelwasserstoff vom Blei befreite Lösung gab eine sehr stark positive Dopareaktion. Da nach *Ernst* und *Waser*<sup>29</sup> Dopa mit  $\text{HgCl}_2$  in sodaalkalischer Lösung fällbar ist, wurde versucht, es auf diese Art vom Milchsucker zu trennen. Es fiel ein Niederschlag, der nach dem Zerlegen mit  $\text{H}_2\text{S}$  eine positive Dopareaktion gab. Die Reaktion war jedoch viel schwächer als nach der Fällung mit Bleiessig. Der Schwefelwasserstoff wurde durch Einleiten von Kohlensäure vertrieben und die Dopalösung nach Zugabe von schwefliger Säure im Wasserstoffstrom eingengt. Trotz dieser Vorsichtsmaßnahmen färbte sich die Lösung bald dunkelbraun, und beim weitgehenden Einengen setzte sich am Rande des Destillierkolbens eine Kruste fest. Da Dopa in Alkohol schwer löslich ist, wurde der Kolbeninhalt mit Alkohol versetzt und filtriert. Der schwarzbraune Filtrerrückstand gab nur eine schwache Dopareaktion. Scheinbar ist beim Einengen der größte Teil zersetzt worden. Es war also nicht möglich, Dopa rein zu isolieren. Sämtliche Farb- und Fällungsreaktionen zeigen aber, daß Dopa oder wenigstens ein Ortho-Diphenolderivat gebildet worden ist.

Der saure Ätherextrakt, der eine stark positive *Millonsche* Reaktion gab, wurde mit Tierkohle entfärbt und eingedampft. Es blieb eine sehr stark mit Schmierem verunreinigte Krystallmasse zurück. Die Substanz wurde wieder mit Äther aufgenommen, über geglühtem Natriumsulfat getrocknet und nach dem Einengen mit Petroläther ausgefällt. Dieser Vorgang wurde mehreremal wiederholt. Bei großen Verlusten konnte so eine geringe Menge einer Substanz gewonnen werden, die einen Schmelzpunkt von  $124\text{--}126^\circ$  hatte. Der Schmelzpunkt und die Krystallform legten die Annahme nahe, daß die Substanz p-Oxyphenylpropionsäure (F.  $128\text{--}129^\circ$ ) vorstellte. Der Mischschmelzpunkt mit reiner p-Oxyphenylpropionsäure lag bei  $127^\circ$ . Um die Substanz weiter zu reinigen, wurde sie mit wenig Wasser aufgenommen und auf Filtrierpapier gedrückt. Der Schmelzpunkt lag jetzt bei  $127,5^\circ$ . Die Analyse ergab folgende Werte:

33,4 mg Substanz ergeben	78,92 mg $\text{CO}_2$ und	18,22 mg $\text{H}_2\text{O}$
	64,44 % C	6,11 % H

Für p-Oxyphenylpropionsäure berechnet:

C-Gehalt 65,02%    H-Gehalt 6,08%

### Diskussion.

Vergleicht man die Ergebnisse mit den in der Literatur niedergelegten Befunden, so ergibt sich folgendes Bild:

Übereinstimmend mit den Befunden von *Ehrlich*<sup>17</sup> bildete *Oidium lactis* durch hydrolytische Desaminierung p-Oxyphenylmilchsäure und daneben kleine Mengen Tyrosol.

Als Abbauprodukt von *Bac. mesentericus* wurde hauptsächlich das Tyramin festgestellt, daneben etwas Tyrosol.

*Bac. putrificus* bildete p-Oxyphenylpropionsäure, die auch schon *Brasch*<sup>15</sup> als Abbauprodukt von *Bac. putrificus* gefunden hatte.

Aus Tilsiter Käse isolierte Mikrokokkenstämme bildeten Tyramin. Es ist aber anzunehmen, daß daneben auch saure Abbauprodukte und Tyrosol entstanden sind.

Bei *Bact. coli* wurde im sauren Medium ein saures Abbauprodukt festgestellt, das nicht näher identifiziert werden konnte. Im alkalischen Medium war p-Oxyphenylelessigsäure gebildet worden, daneben auch scheinbar kleine Mengen Tyrosol. Eine Aminbildung konnte nicht festgestellt werden. Nach *Sasaki*<sup>18 u. 24</sup> soll *Bact. coli* im sauren Medium hauptsächlich Tyramin bilden. Eine Wiederholung des Versuches mit dem von ihm benutzten Nährboden ergab jedoch ein negatives Resultat. Es wurden saure Abbauprodukte und Phenol festgestellt. Es sei noch besonders darauf hingewiesen, daß die zur Untersuchung gelangten Colistämme regelmäßig frisch aus Milch gezüchtet wurden. Damit entfällt der Einwand, daß die Fähigkeit der Aminbildung durch Fortzucht in künstlichem Medium in Verlust geraten sein könnte, wie von *Otsucko*<sup>25</sup> angegeben wird.

Ein aus Tilsiter Käse isolierter Stamm von *Streptoc. casei* bildete aus Tyrosin p-Oxyphenylpropionsäure. Es besteht weiterhin die Möglichkeit, daß geringe Mengen Amin entstanden sind, denn der alkalische Extrakt reagierte mit *Millons* Reagens schwach positiv.

Milchsäurestreptokokken und Milchsäurelangstäbchen haben Tyrosin anscheinend nicht angegriffen, es konnten keine Abbauprodukte isoliert werden.

Nach den Befunden von *Ehrlich* und *Lange*<sup>3</sup> soll ein aus Emmentaler Käse isoliertes Milchsäurebacterium, das mit *Bact. casei*  $\alpha$  v. Freudenreich identisch sein soll, ein kräftiger Aminbildner sein. Sie machen es für die von ihnen im Käse festgestellten größeren Tyraminmengen mit verantwortlich. Dieses Ergebnis steht aber im Widerspruch dazu, daß das Stäbchen auf gewöhnlichem Nährboden schlecht anging. Der für die Untersuchung verwendete Nährboden war aber ein rein synthetischer von folgender Zusammensetzung: 0,5 g Tyrosin, 2 g Milchzucker, 0,3 g  $K_2HPO_4$ , 0,1 g  $Mg_4 SO \cdot 7 H_2O$ , 0,1 g NaCl und

Spuren  $\text{FeSO}_4$  waren in 1 l Wasser gelöst. Wegen der großen Ansprüche, die alle echten Milchsäurebakterien an das Nährmedium speziell hinsichtlich ihres Vitaminbedarfs (*Orla Jensen*<sup>30</sup>) stellen, ist zu vermuten, daß *Ehrlich* und *Lange* nicht mit Reinkulturen gearbeitet haben.

*Barthel*<sup>31</sup>, *Orla Jensen*<sup>32</sup>, *Virtanen*<sup>33</sup> und andere Autoren nehmen an, daß die Reifung nmentlich der Hartkäse in der Hauptsache, wenn nicht ausschließlich, durch Milchsäurebakterien bedingt wird. Der Eiweißabbau durch diese Bakterien ist, wenn überhaupt vorhanden, sehr gering. Nach den vorliegenden Untersuchungen können diese Bakterien auch keine sekundären Abbauprodukte aus den Aminosäuren bilden, die das Aroma der verschiedenen Käsesorten bedingen. Uns scheint deshalb die Annahme einer Reifung des Käses durch Milchsäurebakterien unwahrscheinlich.

Besonders eingehend wurde *Bact. lactis-aerogenes* untersucht. In allen Fällen wurde Tyrosol als Abbauprodukt gefunden, das auch *Hirai*<sup>21</sup> festgestellt hatte. Außerdem fanden wir im alkalischen Medium Tyramin und im sauren Medium p-Oxyphenylelessigsäure, dessen Entstehung aus dem Tyrosol leicht denkbar ist. Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu den Befunden von *Sasaki*, *Hanke* und *Kössler*, die uns leider nicht im Original zugänglich waren, sondern die wir dem Sammelreferat von *Janke*<sup>34</sup> entnehmen mußten. Nach diesen Befunden soll die Aminbildung nur im sauren Milieu stattfinden, und zwar nur bei Gegenwart eines Kohlehydrates, das wie Lactose durch die betreffenden Mikroben unter Säurebildung zersetzt wird. Aus unseren Befunden ergibt sich, daß diese These keine Allgemeingültigkeit hat. Es können bei unseren Versuchen vielleicht auch die anaeroben Verhältnisse eine Rolle gespielt haben; sie sind dadurch entstanden, daß das alkalische Medium durch Zusatz von Calciumcarbonat verursacht wurde, und die entstehende Milchsäure Kohlensäure in Freiheit setzte und damit die Luft aus dem Kolben verdrängte.

Weiterhin fanden wir bei *Bact. lactis aerogenes* eine Violettfärbung mit Ammoniak, die offenbar auf Produkte zurückzuführen ist, die durch Bakterientyrosinase entstanden sind.

Ein einwandfrei positives Ergebnis über Bakterientyrosinase fanden wir dann bei *Bact. proteus*.

Die in der Literatur niedergelegten Befunde über Bakterientyrosinase beziehen sich lediglich darauf, inwiefern Bakterien imstande sind, in tyrosinhaltigen Nährböden Melanine zu bilden. Die ersten Angaben hierüber stammen von *Gesard*<sup>35</sup>. Er beobachtete, daß ein Mikroorganismus aus der *Pyocyanus*-Gruppe nur dann rotes und schwarzes Pigment bildete, wenn Tyrosin in dem Kulturmedium vorhanden war. Er nannte diesen Mikroorganismus daher *Bac. melanogène*. *Lehmann*<sup>36</sup> beobachtete Melaninbildung bei *Bact. fluorescens* von *liquefaciens*. *Carbone*<sup>37</sup> prüfte mehrere Organismen mit negativem Erfolge auf Melaninbildung.

*Uyeda*<sup>38</sup> beschrieb einen aus Tabak isolierten Mikroorganismus, der Tyrosinase enthalten soll. *Lehmann* und *Sano*<sup>39</sup> prüften eine Reihe von Bakterien auf ihre Fähigkeit, tyrosinhaltige Nährböden braun zu färben. Er fand 3 Arten, die dazu befähigt waren. Am stärksten färbte *Actinomyces chromogenes*, dann *Bact. putidum* und *Bact. phosphorescens*. *Beijerinck*<sup>40</sup> fand Melaninbildung bei einem in See- und Grabenwasser vorkommenden Mikroorganismus, der Cholera- und Leuchtvibrionen nahe stehen soll, und dem er den Namen *Mikrospira tyrosinatica* gab. *Schuster*<sup>41</sup> führt die durch *Bact. xanthochlorum* hervorgerufene Schwarzfärbung auf Tyrosinasewirkung zurück. *Stapp* prüfte 76 Bakterienstämme auf Melaninbildung und fand diese Eigenschaft nur bei einigen *Radicicola*-Arten. Die Melaninbildung bei *Bac. mesentericus niger* (asporogen) und *Bac. mesentericus niger* Zettnow (sporogen) war fraglich.

Nach *Raper*<sup>27</sup> ist die Melaninbildung jedoch erst ein sekundärer Prozeß, zu dem das Ferment nicht mehr notwendig ist. Wohl aber muß die Aminogruppe der Seitenkette noch vorhanden sein, damit Indolringbildung entstehen kann. Da viele Bakterien aber eine Ammoniakabspaltung bewirken, kann eine Tyrosinasewirkung infolge der nun fehlenden Melaninbildung leicht übersehen werden. Es erscheint uns notwendig, nicht die Schwarzfärbung, sondern die durch Eisenchlorid bewirkte Grünfärbung, die durch Alkali in violett bzw. rot umschlägt, als Charakteristicum einer Tyrosinasewirkung anzuwenden, da sie für *o*-Diphenole als spezifisch anzusehen ist.

Es ist im übrigen auffallend, daß *Bact. proteus* neben der Tyrosinase *p*-Oxyphenylpropionsäure bildete. Wir haben hier auf einer Seite ein kräftig oxydierendes Ferment und auf der andern Seite eine reduktive Desaminierung. Die Tyrosinase ist eine echte Oxydase, die nur bei Gegenwart von Luftsauerstoff, indem es diesen aktiviert, wirksam ist. Die Bildung substituierter Propionsäuren verläuft, soweit bisher bekannt ist, nur unter anaeroben Verhältnissen und ist namentlich bei obligaten Anaerobiern zu beobachten (Fäulnisbakterien). Bei dem von uns verwendeten *Proteus*-stamm liegen also eigenartige Verhältnisse vor, da Produkte gebildet wurden, die eigentlich verschiedene Umweltbedingungen zur Voraussetzung haben.

Nach den vorliegenden Befunden halten wir die Bakterientyrosinase für bedeutungsvoll bei einem Käsefehler, der bis jetzt noch keine befriedigende Erklärung gefunden hat; nämlich das *Bankrotwerden* des Käses. Dieses äußert sich darin, daß der Käse einige Zeit nach der Herstellung auf der Oberfläche eine violette bis kirschrote Färbung aufweist. In der Mehrzahl der Fälle hat man diese Erscheinung auf Substanzen im Tannenholz der Bretter, auf denen die Käse lagen, zurückgeführt. *Teichert*<sup>43</sup> versuchte diese Erscheinung als eine Phloroglucin-Vanillin-Reaktion zu erklären. Dieser Auffassung schließt sich auch *Demeter*<sup>44</sup> für den von ihm beobachteten Fall an. Als weitere Ursache geben *Burstert* und *Herz*<sup>45</sup> die Bildung von Rhodaniden im Käse an, welche mit Eisen reagieren. Nach *Weigmann*<sup>46</sup> kann die Rot-



färbung auch von einem Kurzstäbchen hervorgerufen werden. Dieser Fehler wird als Rotfäule bezeichnet. *Grimmer*<sup>47</sup> beschreibt einen Fall des Bankrotwerdens von Käsen, der in Ostpreußen an Tilsiter Käse beobachtet worden ist. Inzwischen sind hier noch mehrere solcher Fälle bekannt geworden. *Drewes* und *Kniefall*<sup>48</sup> endlich beschreiben eine Violett- bis Schwarzbraunfärbung von Sauermilchkäsen, als deren Ursache verschiedene Bakterien, darunter auch *Bact. vulgare* erkannt werden. Da auf Nährböden, die einen Zusatz von Tyrosin erhalten hatten, die Verfärbung in besonderem Maße auftrat, so vermuten sie hier eine Tyrosinasewirkung, eine Annahme, die durch unsere Befunde eine feste Grundlage erhält.

Die Annahme von *Teichert*<sup>43</sup> und *Demeter*<sup>44</sup> können für die in Ostpreußen beobachteten Fälle nicht zutreffen, denn die Verfärbungen treten im alkalischen Medium auf, während die Phloroglucin-Vanillinreaktion bei stark saurer Reaktion verläuft. Außerdem spricht gegen diese Annahme die Tatsache, daß der Fehler plötzlich auftrat und dann die ganze Produktion befiel, obgleich die Bretter alt waren und vorher nie den Fehler verursacht hatten. Die Untersuchungen *Grimmers*<sup>47</sup> hatten seiner Zeit ergeben, daß die Oberfläche der Käse verhältnismäßig viel Eisen enthielt; auch die Käsebretter sowie das Salzbad waren durch Tropfwasser von der Decke des Kellers mit Eisen ziemlich stark imprägniert. Das gleiche scheint bei den Beobachtungen von *Herz* und *Burstert*<sup>45</sup> der Fall gewesen zu sein, die daraufhin die Rotfärbung als von Rhodaneisen herrührend ansprachen. Die von uns mit Dopa erzielten Farbtöne entsprachen vollständig denen, die auf den Käsen festgestellt wurden, ebenso die Reaktionsverhältnisse (schwach alkalische Reaktion durch Ammoniak). Wir sind davon überzeugt, daß es sich bei den in Ostpreußen beobachteten Fällen um eine echte Dopareaktion handelte, und daß es außer den wenigen bisher in der Literatur bekanntgegebenen Bakterien noch weitere gibt, die eine Tyrosinasewirkung zu entfalten vermögen. Hierzu gehören nach den vorliegenden Untersuchungen ganz zweifellos *Bact. lactis aerogenes* und *Bact. vulgare* (*proteus*). Wir werden durch weitere Untersuchungen diese Frage zu klären versuchen.

#### Literaturverzeichnis.

- <sup>1</sup> *Winterstein* u. *Küng*, Z. physiol. Chem. **59**, 138 (1909). — <sup>2</sup> *Van Slyke* u. *Hart*, Chem. Zbl. **1903** II, 133. — <sup>3</sup> *Ehrlich* u. *Lange*, Biochem. Z. **63**, 156 (1914). — <sup>4</sup> *Winterstein* u. *Bissegger*, Z. physiol. Chem. **47**, 28 (1906). — <sup>5</sup> *Winterstein* u. *Thöny*, Ebenda **36**, 28 (1902). — <sup>6</sup> *Nierenstein*, Proc. roy. Soc. Lond. S. B. **83**, 311 (1902). — <sup>7</sup> *Van Slyke*, Amer. chem. J. **33**, 461 (1905). — <sup>8</sup> *Grimmer*, *Bodschwinna* u. *Schützler*, Milchwirtsch. Forsch. **7**, 595 (1929). — <sup>9</sup> *Orla Jensen*, Landw. Jb. Schweiz **319**, (1904). — <sup>10</sup> *Grimmer* u. *Brandt*, Milchwirtsch. Forsch. **4**, 547 (1927). — <sup>11</sup> *Grimmer*, *Bodschwinna* u. *Lingnau*, Milchwirtsch. Forsch. **1**, 374 (1924). —

- <sup>12</sup> Grimmer u. Wiemann, Forsch. Geb. Milchwirtsch. u. Molkereiwes. **1**, 2 (1921). —  
<sup>13</sup> Baumann, Chem. Ber. **12**, 1450 (1879). — <sup>15</sup> Brasch, Biochem. Z. **22**, 403 (1909).  
— <sup>16</sup> Traetta-Mosca, Gazz. chim. ital. **40** (I), 86 (1910). — <sup>17</sup> Ehrlich, Chem. Ber.  
**40**, 1027 (1907) u. **44**, 888 (1911). — <sup>18</sup> Sasaki, Biochem. Z. **59**, 429 (1914). —  
<sup>19</sup> Hashimoto, Nagasaki Igakkwai Zassi **15**, 469 (1937). — <sup>20</sup> Kinsaburo Hirai,  
Biochem. Z. **114**, 71 (1921). — <sup>21</sup> Kinsaburo Hirai, Acta Scholae med. Kioto **2**, 425  
(1918). — <sup>22</sup> Stefenson u. Gale, Biochemic. J. **31**, 1316 (1937). — <sup>23</sup> Kinsaburo Hirai,  
Biochem. Z. **114**, 71 (1921). — <sup>24</sup> Sasaki, J. of biol. Chem. **32**, 527 (1917). —  
<sup>25</sup> Otsucko, Biochem. Z. **114**, 81 (1921). — <sup>26</sup> Guggenheim, Handbuch der Bio-  
logischen Arbeitsmethoden. Abt. I. Chem. Meth. Teil 7, 467 (1923). — <sup>27</sup> Raper,  
Fermentforsch. **9**, 206 (1928). — <sup>28</sup> Kinsaburo Hirai, Biochem. Z. **114**, 67 (1921). —  
<sup>29</sup> Ernst u. Waser, Handbuch der Biologischen Arbeitsmethoden. Abt. I. Chem.  
Meth. Teil 7, 639 (1923). — <sup>30</sup> Orla Jensen, Zbl. Bakter. II **94**, 474 (1936). —  
<sup>31</sup> Barthel u. Sandberg, Zbl. Bakter. II **49**, 392 (1909). — <sup>32</sup> Orla Jensen, zit. nach  
Virtanen<sup>33</sup>. — <sup>33</sup> Virtanen u. Lundmark, Milchwirtsch. Forsch. **8**, 375 (1929). —  
<sup>34</sup> Janke, Arch. Mikrobiol. **1**, 304 (1930). — <sup>35</sup> Gessard, Ann. Inst. Pasteur **15**, 817  
(1901). — <sup>36</sup> Lehmann, Münch. med. Wschr. **49**, 340 (1902). — <sup>37</sup> Carbone, Zbl.  
Bakter. II **19**, 587 (1907). — <sup>38</sup> Uyeda, Chem. Zbl. **1**, 1757 (1906). — <sup>39</sup> Lehmann  
u. Sano, Arch. f. Hyg. **67**, 99 (1908). — <sup>40</sup> Beijerinck, Kon. Akad. van Wetensch.  
Amsterdam **13**, 1066 (1911). — <sup>41</sup> Schuster, Arb. biol. Reichsanst. Land- u. Forstw.  
**8**, 451 (1913). — <sup>42</sup> Stapp, Biochem. Z. **141**, 42 (1923). — <sup>43</sup> Teichert, Forsch. Geb.  
Milchwirtsch. u. Molkereiwes. **1**, 81 (1921). — <sup>44</sup> Demeter, Milchwirtsch. Forsch.  
**2**, 325 (1925). — <sup>45</sup> Burstert u. Herz, zit. nach Fleischmann, Lehrbuch der Milch-  
wirtschaft. 6. Aufl. **1920**, 413. — <sup>46</sup> Fleischmann-Weigmann, Lehrbuch der Milch-  
wirtschaft. 7. Aufl. **1932**, 829. — <sup>47</sup> Grimmer, Forsch.dienst **4**, 138 (1937). —  
<sup>48</sup> Drewes u. Kniefall, Milchwirtsch. Forsch. **19**, 397 (1938).
-

## Fortsetzung des Autorenverzeichnisses!

- |   |                         |                               |                          |
|---|-------------------------|-------------------------------|--------------------------|
| Gebhard-Merkel 120.                         | Manuel, S. 159.         | Peterson, William Harold 127. | Siemonsen, K. 143.       |
| Gorowitz-Wlassowa, L. M. 141.               | Marquardt, J. C. 155.   | Pijanowski, E. 151, 158.      | Smith, James 123.        |
| Graf, Franz 164.                            | Mattick, A. T. R. 162.  | —, Eng. 129.                  | Sorensen, A. 157.        |
| Green, D. E. 129.                           | Maynard, L. A. 133.     | Plock 120.                    | Spirito, Francesco 122.  |
| Guerrant, N. B. 161.                        | Mazé, P. 136.           | Quackenbush 127.              | Stahly, G. L. 158.       |
| Guittonneau, G. 155.                        | Mellander, O. 128.      | Ragno, Michele 157.           | Steenbock, Harry 127.    |
| Hassouna, M. M. 136.                        | Mentzer, Charles 160.   | Raoul, Y. 158.                | Stockklauser, F. 119.    |
| Hepke, Hans 130.                            | Mergner, H. 152.        | Rasmussen, Russel 133.        | Strain, Harold H. 159    |
| Heuser, Otto 134.                           | Meunier, P. 158.        | —, Paul 160.                  | Sugihara, Goro 131.      |
| Hobbs, B. C. 140.                           | Meyer, E. H. 120.       | Reece, R. P. 122.             | Suhonen, E. 145.         |
| Hunter, G. J. E. 152.                       | Miyazaki, Shozo 131.    | Richardson, A. 126.           | Sung, Chieh 132.         |
| Jørgensen, H. Chr. 157.                     | Moir, G. M. 166.        | Richardson, G. A. 144.        | Takamatsu, Akira 131.    |
| Jukes, T. H. 144.                           | Mokranjac, M. 157.      | Richter, Fr. 152.             | Tapp, James S. 134.      |
| Kane, Edward A. 127.                        | Mueller, Arthur J. 128. | Ritter, P. 153, 156.          | Teggenthien, Hans 121.   |
| Keilling, J. 155.                           | —, W. 129.              | —, W. 129.                    | Thöni, M. 138, 139.      |
| —, M. J. 150.                               | Neave, F. K. 162.       | Rogers, H. J. 145.            | Tuckey, S. L. 135.       |
| Kelly, C. D. 155, 156.                      | Nehring, K. W. 125.     | Rowland, S. J. 149.           | Turner, C. W. 121.       |
| Kirsch, W. 126.                             | Nelson, F. E. 162.      | Rucker, Nellie P. 138.        | Vainikainen, V. 123.     |
| Knight, Claude A. 161.                      | Nordberg, B. K. 145.    | Ruehe, H. A. 135.             | Vladesco, Radu 130.      |
| Krueger, P. F. 163.                         | Nottbohm, F. E. 128.    | Ruschmann, G. 124.            | Wancolle, Alexandre 134. |
| Kühner, W. 131.                             | —, H. 142.              | Russel, R. R. 166.            | Ward, Forrest 127.       |
| Langenau, E. 144.                           | Nowikow, E. A. 122.     | Sauer, F. 126.                | Wendt, Georg von 133.    |
| Lehmann, G. 123.                            | Nußbaumer, Ths. 129.    | Scheer, K. 133.               | Werdellin, Chr. 162.     |
| Lenkeit, W. 144.                            | Orimo, Rokuro 131, 132. | Schwarz, G. 152.              | Werkman, C. H. 158.      |
| Lewis, A. A. 121.                           | Østergaard, P. S. 157.  | Schwill, Herbert 124.         | Whitehead, H. R. 152.    |
| McClemont, J. 145, 147, 148, 149. [Ph. 125. | Oxley, C. D. 165.       | Seeleman, M. 143.             | Wiegand, J. A. 160.      |
| Malkomesius, Schramm                        | Parfitt, E. H. 151.     | Seelemann 120.                | Wiseman, Herbert G.      |
|   | Parker, M. E. 163.      | Shadwick, G. W. 163.          | Woo, Theresa 132. [127.  |
|   | Pasternak, W. 144.      | Shinn, Leo A. 127.            | Zein-El-Dine, M. 149.    |

# Ernährungslehre

## Grundlagen und Anwendung

Bearbeitet von

B. Bleyer, W. Diemair, O. Flössner, H. Glatzel, J. Kühnau, E. Lehnartz, W. Mollowt, A. Pillat, H. Rudy, A. Schittenhelm, H. Schönfeld, H. Schroeder, W. Schüffner, W. Stepp, P. Vogt-Møller, H. Wendt, F. Wirz

herausgegeben von

### Professor Dr. Wilhelm Stepp

Direktor der I. Medizinischen Klinik der Universität München

Mit 34 Abbildungen. VIII, 622 Seiten. 1939. Gebunden RM 36.—

Inhaltsübersicht:

**A. Physiologie der Ernährung (Allgemeine Ernährungslehre).** I. Nahrungsbedarf. Von Prof. Dr. E. Lehnartz, Göttingen. — II. Bedeutung und Aufgabe der einzelnen Nahrungsstoffe. a) Energieträger. Von Prof. Dr. E. Lehnartz, Göttingen. b) Wasser. Von Prof. Dr. E. Lehnartz, Göttingen. c) Schutzstoffe (protective food): 1. Mineralstoffe. Von Prof. Dr. E. Lehnartz, Göttingen; 2. Chemie der Vitamine. Von Dr. H. Rudy, Erlangen; 3. Physiologie und Biologie der Vitamine. Von Dozent Dr. habil. H. Schroeder, München. — III. Nahrungsmittel und ihre Erzeugung. Von Prof. Dr. B. Bleyer, München. — IV. Die Verarbeitung der Nahrungsmittel. Von Prof. Dr. W. Diemair, Frankfurt a. M. — **B. Pathologie und Therapie der Ernährungskrankheiten.** I. Unterernährung und Überernährung. Von Prof. Dr. A. Schittenhelm, München. — II. Avitaminosen und Hypovitaminosen. a) Vitaminmangelzustände: 1. Mangel an Vitamin A. Von Prof. Dr. A. Pillat, Graz. — 2. Mangel an den Vitaminen des B-Komplexes (einschl. Segelschiff-Berberi). Beriberi. Von Prof. Dr. W. Schüffner, Amsterdam; Die B<sub>1</sub>-Hypovitaminose als europäisches Ernährungsproblem. Von Dozent Dr. habil. H. Schroeder, München; Das Vitamin B<sub>2</sub>. Von Dozent Dr. med. J. Kühnau, Wiesbaden. Über Pellagra. Von Prof. Dr. W. Mollowt, Sofia. — 3. Mangel an Vitamin C. Von Prof. Dr. W. Stepp, München. — 4. Mangel an Vitamin D. Von Prof. Dr. H. Schönfeld, Berlin. — 5. Mangel an Vitamin E. Von Priv.-Doz. Dr. P. Vogt-Møller, Kopenhagen. — b) Über Beziehungen der Vitamine zu einigen besonders wichtigen Krankheitszuständen. Von Dozent Dr. H. Wendt, München. — III. Allgemeine Diätetik. Von Dozent Dr. H. Glatzel, Kiel. — IV. Krankenhauskost. Von Dozent Dr. H. Glatzel, Kiel. — **C. Ernährung als gesundheitspolitisches Problem.** I. Allgemeines. — II. Gemeinschaftsverpflegung (Massenernährung). — III. Ernährung bei den verschiedenen Völkern der Erde. — **D. Gesundheitliche Ernährungslenkung.** Von Prof. Dr. F. G. M. Wirz, München. — **Sachverzeichnis.**

VERLAG VON JULIUS SPRINGER IN BERLIN