Beiträge zur Biologie der Spaltpilze / herausgegeben von M. Nencki.

Contributors

Nencki, Marceli, 1847-1901.

Publication/Creation

Leipzig : Barth, 1880 (Leipzig : Metzger & Wittig.)

Persistent URL

https://wellcomecollection.org/works/jt9c5prm

License and attribution

This work has been identified as being free of known restrictions under copyright law, including all related and neighbouring rights and is being made available under the Creative Commons, Public Domain Mark.

You can copy, modify, distribute and perform the work, even for commercial purposes, without asking permission.

wellcome collection

Wellcome Collection
183 Euston Road
London NW1 2BE UK
T +44 (0)20 7611 8722
E library@wellcomecollection.org
https://wellcomecollection.org

26. B.

22102088245

Med
K16375

26, B,

Digitized by the Internet Archive
in 2016

https://archive.org/details/b28122598

CHECKED.

BEITRÄGE

ZUR

BIOLOGIE DER SPALTPILZE

HERAUSGEGEBEN

1979

VON

M. NENCKI.

MIT ZWEI LITH. TAFELN.

LEIPZIG,
VERLAG VON JOH. AMBR. BARTH.
1880.

19967

15137

Aus dem *Journal f. prakt. Chemie, Neue Folge, Bd. XIX u. XX,* besonders abgedruckt.

WELLCOME INSTITUTE LIBRARY
Coll. welMOmec
Call No. QW

Druck von Metzger & Wittig in Leipzig.

Ueber die Lebensfähigkeit der Spaltpilze bei fehlendem Sauerstoff;

von

M. Nencki.

Im 16. Bande d. Journ. f. prakt. Chem. veröffentlichte J. W. Gunning eine Reihe interessanter Versuche, deren Ergebniss er dahin resumirt, dass die Fäulniss in zugeschmolzenen Glasapparaten bei Sauerstoffausschluss entweder gar nicht eintritt, oder, wenn eingetreten, nach einiger Zeit gänzlich aufhört. Hieran knüpft er die Bemerkung, dass wenn der Luftausschluss durch hermetische Schliessung der Apparate bewirkt wird, dann meine Behauptung, — dass lebende Organismen bei Luftausschluss Zersetzung grosser Mengen organischer Substanzen nicht nur hervorrufen, sondern auch vollenden können — für die Fäulnissprocesse nicht zutrifft. Allerdings sind aber Sauerstoffausschluss und hermetische Schliessung der Apparate zwei verschiedene Dinge, wenn auch Gunning sie als gleichbedeutend zu betrachten geneigt ist. Die Versuche von Jeanneret[1]), auf die ich die obige Behauptung stützte, sind in meinem Laboratorium ausgeführt worden. Ich habe selbst die von Jeanneret erwählte Versuchsanordnung erprobt und hatte keinen Grund, an der Zuverlässigkeit derselben zu zweifeln. Bei Fäulnissversuchen, in welchen die Gasentwicklung über 4 Wochen dauerte, stieg das Quecksilber nach Aufhören derselben in dem Ableitungsrohr zurück, als Zeichen, dass der Gummistöpsel luftdicht schloss. Von Eindringen einer irgend nennbaren Menge Sauerstoff in den Kolben konnte nicht die Rede sein. Wenn daher in den Versuchen Gunning's die Fäulniss entweder gar nicht eintrat, oder, wenn eingetreten, bald aufhörte, so wurde es mir allerdings sehr wahrscheinlich, dass die Art des Verschlusses in seinen Versuchen die Ursache davon war. Gunning experimentirte in zugeschmolzenen Glas-

[1]) Journ. f. prakt. Chem. [2] **16,** 353.

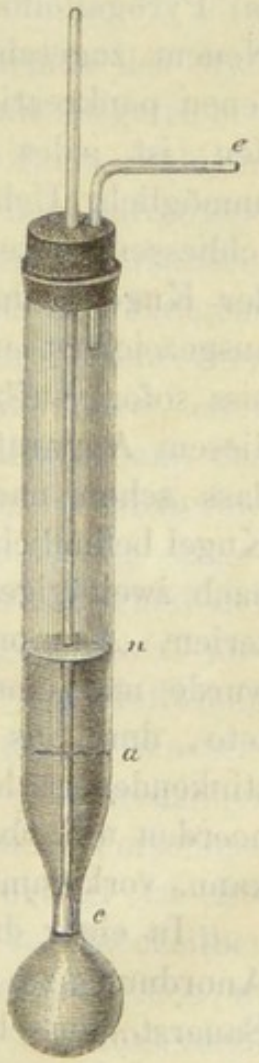
gefässen, aus denen meistentheils die Luft vorher durch Auspumpen entfernt wurde. Die Bedenken, die sich gegen eine derartige Versuchsanordnung erheben lassen, — dass nämlich ein solcher Verschluss das Entweichen irgend welchen flüchtigen Stoffes, dessen Anhäufung über ein gewisses Maass die Bacterien tödten oder unwirksam machen könnte, verhindert, — werden von Gunning erwogen, als gering bezeichnet, aber nicht ganz geleugnet. Ein anderes Bedenken betrifft die Infectionsorganismen. Ich habe mehrfach beobachtet, dass sehr bewegliche Bacillen in fäulnissfähige Lösung bei Luftausschluss gebracht, sehr bald ihre Beweglichkeit verloren und zu Boden fielen, während die Nährlösung klar und ohne jedes Zeichen putrider Zersetzung blieb. Es war möglich, dass die von Gunning zur Inficirung verwendeten Tropfen von faulendem Eiweiss wohl lebensfähige Luftspaltpilze, aber keine frischen, bei Luftausschluss lebensfähigen Keime enthielten. Gelegentlich der Versuche Jeanneret's habe ich gesehen, dass ausnahmslos bei Luftausschluss Fäulniss sich einstellte, wenn zur Inficirung ein Stückchen frisches Ochsenpankreas oder einige Tropfen des aus der Drüse ausgepressten Saftes verwendet wurden. Ich habe daher zunächst die Versuche Gunning's auf folgende Weise wiederholt:

Ein etwa 1 Ctm. weites Glasrohr wurde an einem Ende zu einer annähernd 50 Cctm. fassenden Kugel ausgeblasen, sodann die Kugel bis etwas über die Hälfte mit einer fäulnissfähigen Flüssigkeit gefüllt. Als solche benutzte ich entweder pankreatischen Saft, gewonnen durch Pressen durch ein Tuch von frischer, klein zerhackter Ochsendrüse, die mit Wasser zu einem Brei angerührt worden, oder auch 2 % Leim oder Eiweisslösungen, denen einige Tropfen des obigen pankreatischen Saftes zugesetzt wurden. Wie aus meinen früheren Publicationen bekannt, enthält die Pankreasdrüse lebender Thiere in ungeheurer Anzahl die Keime der Fäulnissorganismen. Hierauf wurde der Apparat bei *b* (siehe Fig. I) an der Gaslampe eng ausgezogen und das offene Ende (*c*) mit einem Körting'schen Aspirator verbunden. Während des Saugens

Fig. I.

tauchte die Kugel (*a*) in ein auf 40° erwärmtes Wasserbad, und die in ihr enthaltene Flüssigkeit befand sich beständig in heftigem Sieden. Nach 15—20 Minuten lang dauerndem Kochen wurde während des Saugens mit einer spitzen Flamme bei (*b*) der Apparat zugeschmolzen. Ich erhielt so vollkommen luftleere Wasserhammer, die kräftig an die Wand anschlugen und in denen die Flüssigkeit durch die Handwärme zum Sieden gebracht wurde. 8 Stück so beschickter Apparate wurden einige Tage bis 3 Wochen lang in 40° warmem Wasserbade gelassen. Ausnahmslos trat überall Fäulniss ein. Die Flüssigkeiten wurden stinkend, trübe und in allen war ein geringer Druck vorhanden. Ein grosser Theil des Eiweisses wurde zersetzt, und ausser Peptonen und Amidosäuren enthielt die Lösung verhältnissmässig viel flüchtige Fettsäuren als Ammoniaksalze und Indol. Constant war der Druck und auch die Menge der gebildeten Spaltpilze grösser in denjenigen Proben, in welchen nur pankreatischer Saft enthalten war. Die hier auftretenden Fäulnissorganismen sind auf Taf. I, Fig. 1 abgebildet.

Fig. II.



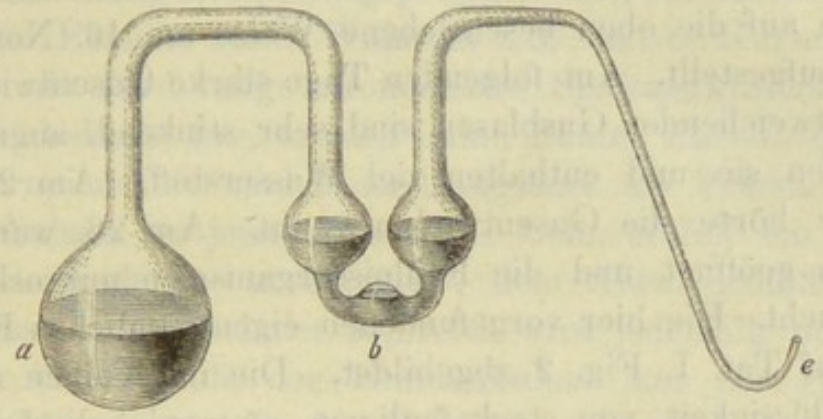
Das gleiche Resultat, nämlich Eintreten der Fäulniss bei vollkommenem Sauerstoffausschluss habe ich durch folgende Versuchsanordnung constatiren können. Ein Gefäss, das in Fig. II im Durchschnitte abgebildet ist, ähnlich dem, das Bunsen zur Bestimmung des Absorptionscoëfficienten des Ammoniaks im Wasser angewendet hat, wurde etwa bis zur Höhe (*a*) mit frischem pankreatischem Safte gefüllt; hierauf mit dem doppelt durchbohrten Kautschukkorke verschlossen. Durch die eine Oeffnung des Korkes geht ein Glasstab, der unten bei (*c*) mit einem gut in die Verjüngung passenden, eingeschliffenen Stöpsel endet. In der zweiten Oeffnung befindet sich ein rechwinklig gebogenes Rohr, dessen Ende (*e*) mit der Luftpumpe verbunden wird. Während des

Saugens befindet sich die Kugel des Apparates im lauwarmen Wasserbade, und der Glasstab wird so weit hinausgeschoben, dass der eingeschliffene Stöpsel etwa in der Höhe von (*a*) zu stehen kommt. Sobald die Luft entfernt ist, was man an dem stossweisen Aufkochen und Anschlagen der Flüssigkeit an die Wände des Gefässes erkennt, wird durch vorsichtiges Drehen der Glasstab hinuntergedrückt, bis durch den Stöpsel die in der Kugel befindliche Flüssigkeit hermetisch abgeschlossen ist. Sodann wird während des Aspirirens mittelst einer spitzen Flamme bei (*e*) das Rohr zugeschmolzen und nach dem Erkalten das zugeschmolzene Ende in einer concentrirten, soeben bereiteten alkalischen Pyrogallollösung abgebrochen. Nachdem hinreichend, bis etwa zu der Höhe (*n*) Pyrogallollösung eingetreten ist, wurde das Rohr (*e*) von Neuem zugeschmolzen. In den, in der Kugel abgeschlossenen pankreatischen Saft, nachdem er sauerstofffrei geworden, ist jedes Eindringen des atmosphärischen Sauerstoffs unmöglich. Ueberdies, falls der Glasstöpsel nicht hermetisch schliessen sollte, würde sich die Pyrogallollösung mit der in der Kugel befindlichen Flüssigkeit vermischen und bei der ausgezeichnet antiseptischen Wirkung der ersteren jede Fäulniss sofort aufhören müssen. Ich habe Fäulnissversuche mit diesem Apparate öfters angestellt und regelmässig gesehen, dass schon nach 24stündigem Stehen bei 40° die in der Kugel befindliche Flüssigkeit von Spaltpilzen erfüllt war und nach zweitägiger Digestion das Eiweiss in peptonartige Materien, Ammoniak und flüchtige Fettsäuren übergeführt wurde und einen eigenthümlichen, fauligen Geruch verbreitete, durchaus gleich demjenigen, wie er in verschiedenen, stinkenden, pathologischen Flüssigkeiten, wie Abscessen, Eiterheerden und Exsudaten, wo nachweislich keine Luft zutreten kann, vorkommt.

In einer dritten Versuchsreihe suchte ich eine derartige Anordnung zu treffen, dass die Fäulniss bei vollkommenem Sauerstoffausschluss verlaufen, und doch die gebildeten Fäulnissprodukte entweichen konnten. Ich glaube, diesen Zweck durch einen Apparat erreicht zu haben, dessen beigegebene Abbildung (siehe Fig. III) ohne weitere Erklärung verständ-

lich ist. Die Beschickung des Apparates geschah wie folgt: Durch Eintauchen des Endes (*e*), das zweckmässig vorher an drei bis vier Stellen verjüngt ausgezogen wird, in frischen

Fig. III.



pankreatischen Saft und gleichzeitiges Erwärmen des etwa ein Liter fassenden Kolbens (*a*) wurde die Luft ausgetrieben und der Kolben etwa zu zwei Drittel mit der fäulnissfähigen Flüssigkeit gefüllt, hierauf das Ende (*e*) mit der Luftpumpe verbunden und der Apparat, wie in den früheren Versuchen, vollkommen luftleer gemacht. Noch während des Saugens wurde das Rohr bei (*e*) zugeschmolzen und durch Abbrechen des zugeschmolzenen Endes in reinem Kohlensäure- oder Stickstoffgas der luftleere Apparat damit gefüllt, sodann das Ende in der Stickstoffatmosphäre zugeschmolzen, wiederum in einer alkalischen concentrirten Pyrogallollösung abgebrochen und durch Erwärmen des Apparates ein Theil des Stickstoffs herausgetrieben, bis die beiden Kugeln des U-förmigen Rohres (*b*) etwa zur Hälfte mit der Pyrogallollösung gefüllt wurden. Nunmehr wurde der Kolben (*a*) im Wasserbade bei 40° gelassen, während das Ende (*e*) in Qurcksilber tauchte. Durch diesen Apparat wurde jeder Verschluss mittelst Kautschuk vermieden. Um dem Vorwurf zu entgehen, dass das Eintauchen der Spitze (*e*) in Quecksilber nicht hinreichend vor Luftzutritt schütze, befindet sich in dem U-Rohr die alkalische Pyrogallollösung, die ausserdem als Index für die Zuverlässigkeit des Verschlusses diente. Die hinzutretende Luft würde die klare, gelbbräunliche Lösung sofort dunkel gefärbt haben. Drei mit diesem Apparate

auf obige Weise angestellten Versuche haben constant eine starke Gasentwicklung und alle die charakteristischen Produkte der Eiweissfäulniss gegeben. Als Beispiel möge folgender Versuch dienen. 500 Ccm. Pankreasflüssigkeit, von welcher 5 Ccm. 0,1058 Grm. trocknes Eiweiss enthielten, wurden auf die oben beschriebene Weise am 16. November 1878 aufgestellt. Am folgenden Tage starke Gasentwicklung. Die entweichenden Gasblasen sind sehr stinkend, angezündet verpuffen sie und enthalten viel Wasserstoff. Am 24. November hörte die Gasentwicklung auf. Am 26. wurde der Kolben geöffnet und die Fäulnissorganismen mikroskopisch untersucht. Die hier vorgefundenen eigenthümlichen Formen sind auf Taf. I, Fig. 2 abgebildet. Die im Kolben enthaltene Flüssigkeit, von stark fauligem, ammoniakalischem Geruch und alkalischer Reaction coagulirt nicht beim Kochen. Mit Kupfersulfat und Natronlauge versetzt zeigt sie die für Peptone charakteristische Biuretreaction. Ich erhielt aus der faulenden Flüssigkeit 0,0472 Grm. pikrinsaures Indol, daneben viel flüchtige Fettsäuren, und wenn der Säuregrad auf die Buttersäure bezogen wird, die den Hauptbestandtheil ausmachte, 26 % von dem Gewichte des trocknen Eiweisses; ausserdem viel Ammoniak, wenig Leucin und kein Tyrosin.

Wie aus dem Mitgetheilten ersichtlich ist in allen von mir angestellten Versuchen, wo von Anwesenheit oder Zutritt von Sauerstoff nicht die Rede sein kann, regelmässig Fäulniss eingetreten. Dieses Ergebniss steht in Widerspruch mit den Ergebnissen Gunning's, welcher in Hefeabkochung, Bouillon und Fleisch, nachdem dieselben mit einem Tropfen faulendem Erbsen- und Eiweisswasser inficirt, sodann luftleer in zugeschmolzenen Kölbchen aufbewahrt wurden, die Fäulniss gänzlich ausbleiben sah. Uebereinstimmend dagegen mit ihm habe ich gesehen, dass in zugeschmolzenen oder hermetisch geschlossenen Gefässen die Fäulniss früher oder später aufhört. Man sieht, dass die Flüssigkeit nach einiger Zeit vollkommen klar wird. Da die entstandenen Gase nicht entweichen können, so liegen die gebildeten Mikroorganismen am Boden des Gefässes, und der Gasdruck wird nach längerem Stehen nicht stärker. Ich zweifle nicht daran, dass

die Ursache des Aufhörens der Fäulniss hier in der Anhäufung flüchtiger Produkte über ein gewisses Maass hinaus zu suchen ist.

Die neueren Untersuchungen haben gezeigt, wie zahlreich und mannichfaltig die Spaltungsprodukte der Proteïnsubstanzen durch die Fäulniss sind. Während z. B. bis vor Kurzem das Tyrosin als das einzige aromatische Spaltungsprodukt des Eiweisses bekannt war, wurden Indol, Skatol, Phenol, Kresol, Phenylpropionsäure und Phenylessigsäure als Produkte der Eiweissfäulniss bis jetzt isolirt; aus Leim erhielt ich allem Anscheine nach eine aromatische, dem Aldehydcollidin isomere Base. Nicht minder zahlreich wird jedenfalls die Anzahl der im Verlaufe der Eiweissfäulniss aus der Gruppe der Fettkörper entstehenden Produkte sein. Von Indol und Phenol ist es bekannt, dass sie fäulnisswidrig sind; auch werden sie dabei in solchen Mengen gebildet, die hinreichend sind, jede Fäulniss zum Stillstand zu bringen. Phenol und Indol entstehen aus dem Leime nicht; da aber in Leimlösungen in zugeschmolzenen Gefässen die Fäulniss nach einiger Zeit aufhört, so bin ich der Ansicht, dass auch hier bis jetzt nicht isolirte, antiseptische Materien entstehen müssen. Beim Oeffnen der mit Leimlösungen gefüllten und der Fäulniss bei Luftausschluss überlassenen Kölbchen macht sich ein widriger, altem fauligem Käse ähnlicher Geruch bemerkbar. Nach alledem halte ich dafür, dass ähnlich wie bei den höher organisirten Wesen auch bei den Spaltpilzen ihre eigenen Aussscheidungsprodukte für sie Gifte sind. Unser Verfahren, bei Ausschluss von Sauerstoff Eiweiss der Fäulniss zu überlassen, jedoch so, dass die Gase und flüchtigen Fäulnissprodukte entweichen können, sind alle derart, dass der letzteren Bedingung nur sehr unvollkommen Rechnung getragen wird, und diesem Umstande ist es gewiss auch zum Theil zuzuschreiben, dass die Fäulniss bei Luftausschluss langsamer als in offenen Gefässen verläuft. Es wäre ein kindlich-naiver Standpunkt, zu verlangen, dass durch Aussaat einiger Tropfen, wo uns das Alter und Entwickelungsstadium der darin enthaltenen Organismen nicht bekannt sind, auch unter den ungünstigsten

Verhältnissen nothwendig Fäulniss eintreten muss. Je mehr unsere Kenntnisse über die Lebensbedingungen der Spaltpilze fortschreiten werden, um so mehr wird es sich herausstellen, dass das Aufkommen und Gedeihen derselben an ganz bestimmte, jetzt anscheinend gleichgültige Bedingungen geknüpft sind. Die von mir angestellten Versuche, wo der Luftzutritt durch Quecksilber und Pyrogallollösung abgesperrt war, und jeder Korkverschluss vermieden wurde, bestätigen aber die Resultate Jeanneret's. Sobald die flüchtigen Fäulnissprodukte entweichen können, wird das Eiweiss zersetzt unter Bildung der für die Fäulniss charakteristischen Produkte und in gleichen Mengen, wie Jeanneret sie gefunden hat. Die Ursache, weshalb in einigen Versuchen Gunning's die Fäulniss gänzlich ausblieb, scheint mir darin zu liegen, dass wenn auch, wie Gunning angiebt, in dem inficirenden Tropfen fast alle Bacterienformen repräsentirt waren, der Tropfen doch nicht diejenigen Formen der Spaltpilze oder deren Keime enthalten konnte, welche des Sauerstoffs zu ihrem Leben und zur Zersetzung der Nährlösung nicht bedürfen. In meiner Arbeit über den chemischen Mechanismus der Fäulniss[1]) habe ich bereits angegeben, dass nicht alle Formen der Spaltpilze bei Luftausschluss leben können. Gelegentlich einer Untersuchung, welche vor zwei Jahren in meinem Laboratorium Herr Dr. Kauffmann in der Absicht unternommen hat, nur eine von den verschiedenen Formen der Spaltpilze zu isoliren und dann ihre Entwicklungsgeschichte untersuchen zu können, habe ich gesehen, dass z. B. die 10 bis 20 Mikrometer langen Bacillen, welche an der Oberfläche faulender Flüssigkeit auftreten und durch ihre schlangenartige Eigenbewegung sich auszeichnen, zu ihrem Leben absolut des Sauerstoffs, wenn auch in geringen Mengen, bedürfen. Man findet sie daher auch öfters in lose verschlossenen, bei gewöhnlicher Temperatur faulenden Eiweisslösungen. Diese Bacillen sind verhältnissmässig am leichtesten frei von Coccen, Mikrobacterien und anderen Spaltpilzformen zu erhalten. Bringt man nun mehrere Tropfen einer Flüs-

[1]) Journ. f. prakt. Chem. [2] **17**, 124.

sigkeit, die bei der mikroskopischen Untersuchung nur die Bacillen enthielt, in verdünnte Eiweisslösungen bei Luftausschluss, so tritt, falls die Lösung durch vorheriges Auskochen von Sauerstoff befreit wurde, keine Fäulniss ein. Enthielt die Nährlösung gelösten Sauerstoff, so tritt schwache Gasentwicklung ein, bis der Sauerstoff vollkommen verbraucht worden. Man sieht dann, dass die Spaltpilze zu Boden fallen, die Flüssigkeit sich klärt; die Fäulniss hört für immer auf. Auch die Mikrobacterien, meistens kurze, ovale Stäbchen von 2—5 Mikrometer Länge — die gewöhnliche Form der Fäulnissorganismen — sind Luftspaltpilze. Sie befinden sich gewöhnlich an der Oberfläche faulender Flüssigkeiten, wobei sie sich durch Quertheilung vermehren und die charakteristischen Kettenformen (Bactéries articulées Béchamp's) bilden. Frisches Ochsenpankreas enthält allem Anscheine nach die Keime auch dieser Mikrobacterien. Bei Luftausschluss bewirken sie Fäulniss; jedoch vermehren sie sich alsdann nicht durch Quertheilung, sondern sie treiben Sporen und erscheinen dann als die sogenannten Köpfchenbacterien. Zu den anaërobien Formen par excellence gehören die Coccen, wenn auch wohl hier nur Luftformen vorkommen mögen, die jedoch mit unseren jetzigen Hülfsmitteln von den anaërobien Formen nicht zu unterscheiden sind. Schon vor 16 Jahren hat Pasteur[1]) den Unterschied zwischen der Fäulniss bei Sauerstoffzutritt und Ausschluss hervorgehoben. Es ist ihm, wie auch Jedem, der nach Pasteur sich mit Untersuchungen über die Fäulniss beschäftigte, aufgefallen, dass die Fäulniss in offenen Gefässen, also bei Luftzutritt, sich zunächst durch Auftreten eines zarten Häutchens an der Oberfläche documentirt, das sich allmählich verdichtet und sodann in Fetzen zu Boden des Gefässes fällt. „Dieses Häutchen, sagt weiter Pasteur, dem sich gewöhnlich noch verschiedene Mucors und Mucedineen zugesellen, hindert die Auflösung des Sauerstoffs in der Flüssigkeit, und so macht sie die Entwicklung der Fermentvibrionen möglich. Für die letzteren ist dann das Gefäss wie vor der Sauerstoffzufuhr

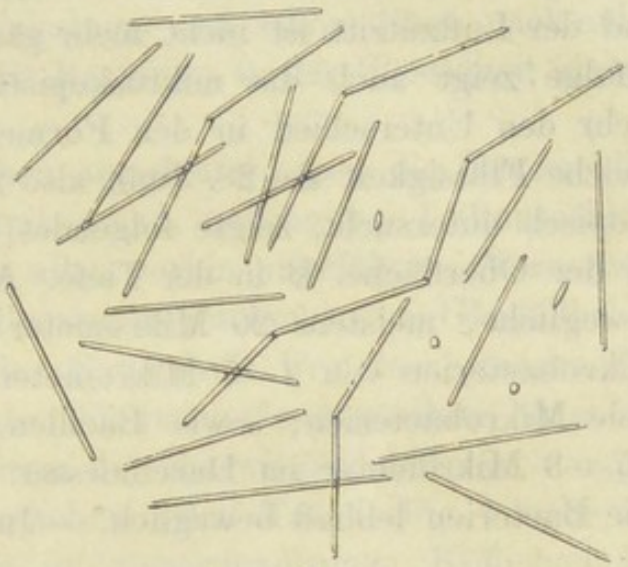
[1]) Compt. rend. 1863, **56,** 1189.

verschlossen. Sie können sich sogar in dem auf der Oberfläche schwimmenden Häutchen vermehren, da sie hier vor der zu directen Einwirkung des atmosphärischen Sauerstoffs durch die Bacterien und Mucors geschützt sind. Die faulende Flüssigkeit wird auf diese Weise Sitz zweier ganz verschiedener chemischer Processe, die in directem Verhältniss zu der physiologischen Thätigkeit der zwei Arten darin sich ernährender organisirter Wesen stehen. Einerseits bedingen die Vibrionen, die ohne Zuthun des atmosphärischen Sauerstoffs leben, im Innern der Flüssigkeit die Fermentationsvorgänge, d. h. sie verwandeln die stickstoffhaltige Materie in einfachere, jedoch noch complicirt zusammengesetzte Produkte. Andererseits verbrennen die Bacterien (oder Mucors) diese Produkte und führen sie in die einfachsten binären Verbindungen, wie Wasser, Ammoniak und Kohlensäure über.“

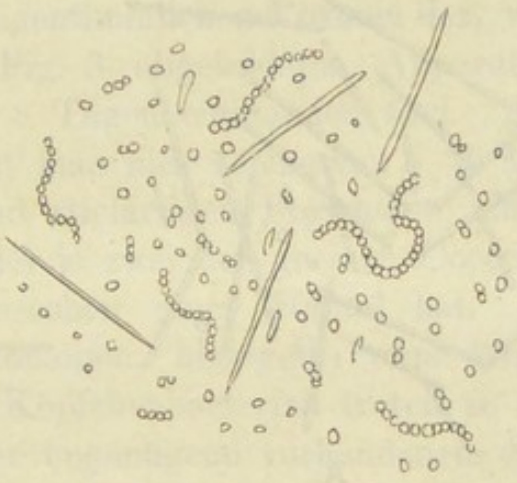
Ich habe vielfach den Verlauf der Fäulniss, sowie das Auftreten und die Entwicklung der sie bewirkenden Spaltpilze bei gewöhnlicher oder Bruttemperatur verfolgt und kann im Allgemeinen die oben citirte Angabe Pasteur's bestätigen. Untersucht man mikroskopisch das an der Oberfläche zuerst sichtbare irisirende Häutchen, so ergiebt sich, dass es aus sehr kleinen Kügelchen (Sporen?), in einer homogenen, schleimigen Masse eingebettet, besteht, die sich in kurzer Zeit, noch innerhalb der schleimigen Masse, entweder zu kurzen Stäbchen (Mikrobacterien) oder zu längeren Bacillen gestalten. Die letzteren treten am häufigsten auf, wenn die Flüssigkeit nicht bei 40°, sondern bei gewöhnlicher Temperatur fault. Das Häutchen breitet sich sehr rasch über die ganze Oberfläche aus. Die anfangs in der schleimigen Masse befindlichen Bacterien trennen sich aus einander, werden beweglich, und nun treten die kettenförmigen Stäbchen auf (Bactéries articulées Béchamp's). Durchbricht man zu dieser Zeit das Häutchen, so ist der Unterschied in den Formen der Spaltpilze ein wirklich auffallender. Während an der Oberfläche nur die Mikrobacterien oder Bacillen sichtbar sind, zeigt ein aus der Tiefe herausgenommener Tropfen fast nur die Coccen, die entweder einzeln

oder zu zweien, dreien oder als mehrgliedrige Ketten das Gesichtsfeld erfüllen. Die beistehende Zeichnung, Fig. IV, veranschaulicht den Unterschied in der Form der Spaltpilze an der Oberfläche (A) und in der Tiefe (B) einer faulenden Eiweisslösung. Die Zeichnung entstammt einer am 21. Mai 1878 aufgestellten Flüssigkeit. Es wurden 2330 Grm. frisches Pankreas und 500 Grm. Muskelfleisch von Fett befreit und klein zerhackt, mit 8 Liter Brunnenwasser übergossen und bis zum 15. October in einem lose zugedeckten Topfe der Fäulniss bei Zimmertemperatur überlassen. Am 2. Juni ist an der Oberfläche eine dicke, mit dünnem Glasstabe kaum durchzubrechende Kruste entstanden. Die Flüssigkeit stinkt intensiv. Ein Tropfen von der Oberfläche derselben zeigt fast nur schlangenartig sich bewegende Bacillen von 10 bis 20 Mikrometer Länge (siehe Fig. IV, A). Im ganzen Gesichtsfelde konnte ich kaum ein paar Coccen entdecken, keine Torulaformen. Dagegen der Tropfen (B) aus der Tiefe der Flüssigkeit zeigt fast nur Coccen, meistens einzeln, daneben viele 2-, 3- und mehrgliedrige Coccenformen. Die Grösse der einzelnen

Fig. IV.



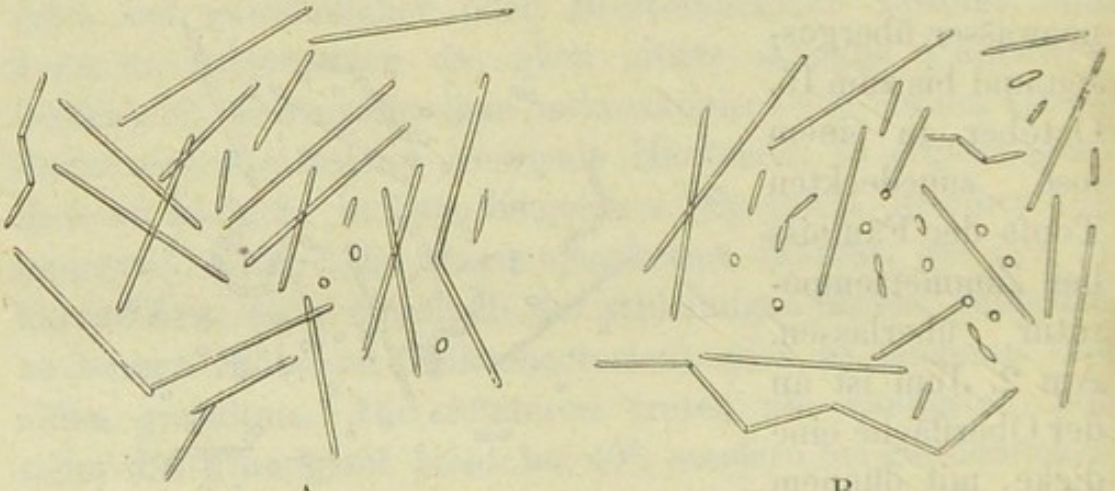
A.



B.

Coccen beträgt durchschnittlich 1 Mikrometer im Durchmesser. Mit der Zeit bricht die an der Oberfläche befindliche Kruste, welche allerdings vollkommen den Zutritt des atmosphärischen Sauerstoffs zu den tieferen Schichten der Flüssigkeit abschliessen kann. Sie fällt in Fetzen zu Boden und der Luftzutritt ist nicht mehr gänzlich behindert. Demzufolge zeigt auch das mikroskopische Bild durchaus nicht mehr den Unterschied in den Formen der Spaltpilze. Die gleiche Flüssigkeit am 28. Juni, also 26 Tage später, mikroskopisch untersucht, zeigte folgendes Bild: siehe Fig. V, A an der Oberfläche, B in der Tiefe. An der Oberfläche sehr bewegliche, meistens 20 Mikrometer lange Bacillen, wenig Mikrobacterien von 2—5 Mikrometer Länge. In der Tiefe viele Mikrobacterien, sowie Bacillen, daneben Coccen von 0,5 — 3 Mikrometer im Durchmesser. Keine Torulaformen. Die Bacterien lebhaft beweglich. — In noch späteren Stadien

Fig. V.



A. B.

der Fäulniss existirt ein Unterschied zwischen der Oberfläche und der Tiefe nicht mehr. Man findet überall gleichmässig Mikrobacterien, Bacillen und kleine Kügelchen vertheilt. Höchstens auf dem Boden des Gefässes finden sich überwiegend Coccen neben den sogenannten Köpfchenbacterien, die ich als anaërobie Form der Stäbchen betrachte. Ich erhielt aus dieser Flüssigkeit, als sie am 15. October verarbeitet wurde, 0,31 Grm. Skatol, die gleiche Substanz, welche Brieger aus menschlichen Excrementen isolirte.

Ganz ähnlich gestaltet sich das Bild, wenn die Eiweisslösung statt bei gewöhnlicher Temperatur bei 40° mit Pankreas fault. Nur ist der Verlauf ein viel rascherer. Den Unterschied in der Form der an der Oberfläche und in der Tiefe lebenden Spaltpilze sieht man am deutlichsten am zweiten bis vierten Fäulnisstage, und schon öfters nach achttägiger Fäulniss sind die Bacterien in der Flüssigkeit gleichmässig vertheilt.

Ich habe schon oben angedeutet, dass die Coccen diejenige Form der Spaltpilze sind, welche bei Luftausschluss zu leben vermögen. In allen vorhin angeführten Versuchen, wo ich entweder in luftleeren, zugeschmolzenen Glaskölbchen oder bei Ausschluss des Sauerstoffs Proteïnsubstanzen der Fäulniss überliess, habe ich regelmässig gesehen, dass die Coccosformen bei Weitem die überwiegende Menge der geformten Fermente ausmachen. Auf Taf. I, Fig. 1 habe ich die Spaltpilze, welche im zugeschmolzenen Kölbchen bei Luftausschluss entstanden sind, abgebildet. Fig. 2 auf gleicher Tafel stellt die eigenthümlichen Formen dar, welche in dem auf Seite 341, Fig. 3 abgebildeten Apparate bei Sauerstoffausschluss nach 8 Tagen entstanden sind. Ausser den kleinsten Coccen sieht man hier solche von 3—5 Mikrometer im Durchmesser mit stielartigen Fortsätzen. Manchmal hängen an einem Stiel je zwei der grossen Coccen, so dass das Ganze das Aussehen einer Hantel hat. Diese grösseren Coccen sind homogen, blassgelb, ohne körnigen Inhalt. Die Coccen und Köpfchenbacterien treten so regelmässig bei fehlendem oder ungenügend vorhandenem Sauerstoff auf, dass sie mit Sicherheit als eine anaërobie Form der Spaltpilze aufzufassen sind.

Als einen ferneren Beweis und zugleich als Beitrag zur Kenntniss der Lebensbedingungen der anaërobien Coccen will ich hier folgenden von Dr. Kauffmann ausgeführten Versuch anführen. Die Anordnung desselben war die gleiche, wie sie Jeanneret[1]) in seinen Versuchen über Fäulniss bei Luftausschluss getroffen hat. Am 10. März 1878 wurden

[1]) Journ. f. prakt. Chem. [2] **15**, 353.

230 Grm. Gelatine als 10 % Lösung durch längeres Kochen in einem Kolben zunächst von absorbirter Luft befreit. Sodann wurde der Stöpsel gelüftet, zu der siedend heissen Lösung 10 Grm. ein Tag altes Pankreas zugefügt und der Stöpsel gleich wieder aufgesetzt. Nach langsamer Abkühlung des Kolbens wurde derselbe in ein auf 40° erwärmtes Wasserbad gebracht. Erst am dritten Tage, am 13. März, begann sich die Lösung zu trüben und eine sehr schwache Gasentwicklung trat ein, so dass bis zum 21. März nur 33 Cctm. Gas entwickelt wurden. Das Gas war nicht brennbar und bestand fast nur aus Kohlensäure. Am 22. März stellte sich plötzlich eine starke Gasentwicklung ein, so dass von jetzt an täglich das Gas zur Untersuchung aufgefangen wurde. Eine vollständige Gasanalyse konnte nicht ausgeführt werden, und wurden nur die relativen Mengen der von Kalilauge absorbirbaren und nicht absorbirbaren Mengen bestimmt; jedoch bestand das nicht absorbirte Gas fast nur aus Wasserstoff. Folgende Tabelle zeigt die Menge des täglich aufgefangenen Gases.

Datum.	Aufgefangene Gasmenge in Ccm.	Nicht absorbirt.	Absorbirt in %.	Nicht absorbirt in %.
März 22.	38,5	1,0	97,41	2,59
„ 23.	64,5	4,8	92,41	7,59
„ 24.	59,5	11,1	81,34	18,66
„ 25.	47,5	10,5	77,90	22,10
„ 26.	51,8	12,2	76,45	23,55
„ 27.	54,8	5,2	90,52	9,48
„ 28.	46,8	0,8	98,30	1,70
„ 29.	58,0	0,4	99,32	0,68
„ 30.	39,8	0,1	99,75	0,25

Das an folgenden Tagen aufgefangene Gas wurde durch Kalilauge völlig absorbirt. Die Gasentwicklung dauerte bis zum 12. April, also 27 Tage. Sodann stieg das Quecksilber in dem Ableitungsrohr zurück und am 17. April wurde die Flüssigkeit chemisch und mikroskopisch untersucht. Hervorzuheben ist, dass im Gegensatz zu Jeanneret, welcher bei der Gelatinefäulniss nur minimale Mengen durch Kali nicht

absorbirbarer Gase fand, hier sehr viel Wasserstoff, bis zu 23 %, entstand. Die intensiv stinkende Flüssigkeit von alkalischer Reaction wurde filtrirt. Auf dem Filter bleibt ein schwarzbrauner Rückstand, aus den gebildeten Spaltpilzen bestehend. Spärliche kürzere und längere Stäbchen, vereinzelte Köpfchenbacterien. Die Hauptmenge aber bilden Kugelbacterien, sowohl vereinzelt, als auch zu zwei-, vier- und mehrgliedrigen Ketten vereint. Die filtrirte klare Flüssigkeit (2670 Grm.) wird in einer tubulirten Retorte mit einer Lösung von 250 Grm. Barythydrat versetzt und destillirt. Das in Salzsäure aufgefangene Destillat ergab 14,13 Grm. Stickstoff = 17,15 Grm. Ammoniak oder 7,46 % NH_3 von dem Gewichte der angewandten Gelatine. Nach Ausfällung des Baryts im Retortenrückstande und Destillation mit SO_4H_2 wurden die flüchtigen Fettsäuren isolirt. Sie bestanden vorwiegend aus Essigsäure. Wird der Säuregrad auf die letztere bezogen, so wurden von dem Gewichte der Gelatine 24,43 % Essigsäure erhalten. Aus der von Ammoniak und Säure freien Lösung wurden ausser peptonartigen Materien noch 11 Grm. Glycocoll erhalten.

Es ergiebt sich hieraus, dass die bei Luftausschluss lebensfähigen Coccen der Siedhitze widerstehen können, und ich könnte kaum ein schöneres Beispiel dafür anführen, dass die Spaltpilze bei Luftausschluss Zersetzung grosser Mengen organischer Substanz nicht nur hervorrufen, sondern sie auch, wie bei Luftzutritt, vollenden können. Alle meine Versuche bestätigen die Ansicht Pasteur's, dass die Mikroorganismen ohne freien Sauerstoff leben können und eben deshalb die Gährung und die Fäulniss hervorrufen. Der angeführte Versuch mit Gelatine, sowie die oben mitgetheilten Versuche stellen es ausser allen Zweifel, dass sobald die zur Aussaat benutzten Keime der Spaltpilze frisch und jung sind, und die Möglichkeit für das Entweichen der flüchtigen Fäulnissprodukte geboten ist, regelmässig die Fäulniss eintreten muss. Auf welche Weise die Zersetzung der Proteïnsubstanzen bei Luftausschluss geschieht, habe ich in meiner Abhandlung: „über den chemischen Mechanismus der Fäulniss“ gezeigt. Allerdings bin ich der Ansicht, dass

bei der Fäulniss der Proteïnsubstanzen bei Luftausschluss Produkte gebildet werden, wie z. B. Glycocoll, Buttersäure, Essigsäure, Phenol, Indol u. s. w., welche nicht weiter in noch einfachere Verbindungen übergeführt werden können. Einige von ihnen, wie z. B. Essig- oder Buttersäure, können erst durch die nur an der Luft lebensfähigen Spaltpilze — mit Hilfe des atmosphärischen Sauerstoffs — zu Kohlensäure und Wasser verbrannt werden. Die Fäulniss der Proteïnsubstanzen ist darin der Alkoholgährung gleich. Aehnlich wie durch die Hefe der Zucker zu Alkohol und Kohlensäure umgewandelt wird und mit der vollständigen Ueberführung des Zuckers in die obigen Produkte die Alkoholgährung vollendet ist, so verhält es sich mit der Fäulniss. Für beide Processe ist der Zutritt oder Ausschluss des Sauerstoffs gleichgültig. So wie der aus Zucker entstandene Alkohol durch die nur an der Luft vegetirenden Pilzformen zu Essigsäure und schliesslich zu Kohlensäure und Wasser oxydirt wird, ebenso werden bei Luftzutritt die durch die Fäulniss gebildeten Fettsäuren, sowie gewisse Amidosäuren durch bestimmte Formen der Spaltpilze zu Kohlensäure, Wasser und Ammoniak verbrannt.

Lässt man Lösungen von Proteïnsubstanzen an der Luft faulen, so sind sie gleichzeitig der Einwirkung der anaërobien Formen in der Tiefe der Flüssigkeit und der Luftspaltpilze an der Oberfläche ausgesetzt. So erklärt es sich, weshalb schon in den ersten Stunden der Fäulniss, wo noch viel unzersetztes, in der Siedhitze coagulirendes Eiweiss vorhanden ist, bereits auch die einfachsten Produkte: wie Kohlensäure und Ammoniak sich vorfinden. Ein Theil der entstandenen Kohlensäure und des Ammoniaks rührt jedenfalls von der Thätigkeit der anaërobien Fermente her, da bekanntlich bei der Hydratation der Eiweisskörper stets Kohlensäure und Ammoniak, und zwar im Verhältniss wie 1:2 (Schützenberger) abgespalten werden. Die Produkte, welche aus Eiweiss durch die anaërobien Spaltpilze gebildet werden, entsprechen denen, welche auch durch Schmelzen von Eiweiss

mit Kalihydrat erhalten werden. Der chemische Mechanismus ist in beiden Fällen der gleiche. Dass aber ein anderer Theil der bei der Fäulniss auftretenden Kohlensäure erst durch Zutritt des atmosphärischen Sauerstoffs entsteht, kann leicht auf folgende Weise demonstrirt werden: Ein mit Eiweisslösung und etwas Pankreassaft zur Hälfte gefülltes Kölbchen wird, nachdem es luftleer ausgepumpt worden, zugeschmolzen und der Fäulniss bei 40° überlassen. Nach einigen Tagen ist ein Theil des Eiweisses in Peptone, Amidosäuren, Ammoniaksalze der flüchtigen Fettsäuren und der Kohlensäure, in Indol u. s. w. übergeführt worden. Beim Oeffnen des Kölbchens entweicht nur wenig Gas, das reichlich Wasserstoff enthält. Schmilzt man nun jetzt, wo Luft hinzugetreten, von Neuem das Kölbchen zu, so ist nach mehrtägiger Digestion bei 40° aller Sauerstoff verschwunden, beim Oeffnen des Kölbchens entweicht viel Gas, das vorwiegend aus Kohlensäure besteht.

Wohl nirgends sind die Bedingungen für die Fäulniss bei Sauerstoffausschluss so günstig, als wie im Dickdarme des Menschen und der höheren Thiere. Dass die Fäulniss hier bei völligem Sauerstoffabschluss vor sich geht, halte ich für sehr wahrscheinlich. Mit den Speisen verschluckter atmosphärischer Sauerstoff gelangt nicht bis hierher; er wird bereits im oberen Theil des Dünndarms vollkommen aufgezehrt. Die Dünndarm- und vollends die Dickdarmgase enthalten keine Spur Sauerstoff mehr, wie dies aus verschiedenen Analysen hervorgeht. Dass dem Oxyhämoglobin in den Capillaren der Dickdarmschleimhaut durch die im Lumen des Darmrohres vorhandenen Fäulnissorganismen Sauerstoff entzogen werden könnte, ist nicht wahrscheinlich, wenn ich auch zugeben will, dass der directe Beweis hierfür noch zu liefern ist. Aus den Versuchen Kauffmann's[1]) geht aber hervor, dass die das Oxyhämoglobin führenden Blutkörperchen, ähnlich wie Ozon, den Fäulnissorganismen deletär sind. Wenn demnach im Dickdarm der Thiere keine Spur freien Sauerstoffs vorhanden ist, und trotzdem nachgewiesenermaassen

[1]) Journ. f. prakt. Chem. [2] **18**, 79.

hier der Hauptsitz der Fäulnissprocesse ist, so haben wir in dem Umstande, dass die Fäulnissprodukte von der Darmschleimhaut aus bald resorbirt werden und so die Anhäufung derselben vermieden wird, einerseits den einfachsten Beweis der Anaërobiose der Fäulnissbacterien und andererseits die einfachste Erklärung, weshalb in sauerstofffreien, aber zugeschmolzenen Gefässen die Fäulniss nach einiger Zeit aufhören muss.

Der menschliche Organismus bietet in gewissen pathologischen Verhältnissen einen weiteren Beweis dafür, dass in dem Maasse, als das Entweichen der Fäulnissprodukte behindert ist, der Gang der Fäulniss ausserordentlich verlangsamt, oder auch zum Stillstand gebracht werden kann. Es sind dies Fälle, wo aus verschiedensten Ursachen Ansammlungen von serösen Flüssigkeiten oder Eiter im Körper vorkommen, dort der Fäulniss unterliegen, und indem der angesammelte Eiter gegen die nächste Umgebung durch fibrinöse Ablagerungen von dem umgebenden Gewebe abgegrenzt wird, ein abgeschlossener Sack entsteht, aus welchem entweder gar nicht oder nur schwierig die Fäulnissprodukte entweichen können. Zum besseren Verständniss will ich hier zwei derartige Fälle anführen, wo ich den Eiter durch die Freundlichkeit meiner Collegen, Prof. Demme und Prof. Lichtheim, wenige Minuten nach der Entleerung untersuchen konnte.

Frau H., 28 Jahre alt, erkrankte am 3. October 1877 an den Symptomen einer acuten Cystitis. Am 23. Septbr. 1878 machte sich zum ersten Male deutlicher eine Geschwulst in der linken Lendengegend bemerkbar. Am 23. November des gleichen Jahres wurde die Geschwulst punktirt und etwa ein halbes Liter eines äusserst stinkenden Eiters entleert. Am 8. December erfolgte der Tod unter allmähliger Erschöpfung der Kräfte. Die Section ergab: Caries der zwei untersten Brust- und des obersten Lendenwirbels, Tuberculose der linken Niere, enormer Congestionsabscess in der linken Lendengegend, tuberculoses Ulcus der hinteren Blasenwand in der Nähe der Einmündung des linken Harnleiters. Den am 23. November entleerten Eiter habe ich sofort

mikroskopisch untersucht und auf Taf. I, Fig. 3 abgebildet. Man sieht nur Eiter-, keine rothen Blutkörperchen. Die Eiterkörperchen sind entweder mit Coccen bedeckt oder auch in eine formlose, ebenfalls mit Coccen bedeckte Masse verwandelt. Man sieht dann sowohl vereinzelte Coccen von 0,5—1 Mikrometer im Durchmesser, als auch Diplococcen und ganze Coccencolonien. Von anderen Spaltpilzformen sind nur kurze Stäbchen von 3—8 Mikrometer Länge, einige davon als Köpfchenbacterien vorhanden. Der Gesammteiter wurde mit 50 Grm. in wenig Wasser gelöster Oxalsäure angesäuert, wobei Kohlensäure entwich; hierauf mit dem gleichen Volumen Aether geschüttelt, der abgegossene Aether bis auf ein kleines Volumen abdestillirt, sodann mit Natronlauge versetzt und von Neuem mit wenig Aether übergossen. Die ätherische Lösung wurde von dem Fett und abgeschiedenen Natronseifen filtrirt, der Aether in einer kleinen Retorte verdunstet, schliesslich mit Wasser versetzt und destillirt. Mit den Wasserdämpfen verflüchtigte sich Indol, das sich in der Vorlage krystallinisch absetzte, im Ganzen 0,023 Grm. Doch war in den Laugen noch mehr davon vorhanden. Durch Ansäuern des Retortenrückstandes mit verdünnter Schwefelsäure und erneuertes Destilliren wurde Phenol mit den Wasserdämpfen verflüchtigt, wovon ich nach der Fällung mit Bromwasser 0,019 Grm. Tribromphenol erhielt.

Johann H., 70 Jahre alt, erkrankte acut am 14. Januar 1879; am 15. konnte man einen Erguss in die rechte Pleurahöhle nachweisen. Am 27. wurden durch Punction 1750 Cctm. stinkenden Eiters aus der Pleurahöhle entleert. Patient starb am 31. Januar. Wie die Section ergab, stand der pleuritische Erguss im Zusammenhange mit einem Abscess der Lendengegend, der wahrscheinlich die Folge eines Schlages war, den Patient vor $1^1/_2$ Jahren erhalten hat. Aus dem stinkenden Eiter, auf die gleiche Weise wie im vorhergehenden Falle behandelt, erhielt ich 0,082 Grm. Indol und 0,0284 Grm. Tribromphenol = 0,0080 Grm. Phenol. Die am Tage vor der Punction gesammelte 24stündige Harnmenge mit verdünnter Schwefelsäure destillirt, lieferte 0,807 Grm. Tribromphenol = 0,2291 Grm. Phenol. Hervorheben

möchte ich, dass hiermit überhaupt zum ersten Male aus stinkenden, eitrigen Abscessen neben Phenol Indol in Substanz erhalten worden ist. Die im Eiter des an purulenter Pleuritis verstorbenen Mannes vorgefundenen Mikroorganismen sind auf Taf. I, Fig. 4 abgebildet. Die Eiterkörperchen sind mit Coccen bedeckt und nur spärliche Eiterzellen sind zerstört und zu formlosen Klumpen verwandelt. Die Mikroorganismen sind einzig und allein durch vereinzelte Coccen vertreten. Im ganzen Gesichtsfelde war nur ein Diplococcos (*a*) und ein Tetracoccos (*b*) zu finden. Aehnlich also wie in den künstlichen Fäulnissversuchen bei Sauerstoffausschluss finden sich auch hier im Eiter, wohin kein Sauerstoff gelangen kann, die gleichen Organismen — nämlich Coccen. Aus dem Umstande, dass die meisten Eiterkörperchen ihre Form beibehalten haben, obgleich die Eiteransammlung monatelang bestand, ergiebt sich, dass die Fäulniss in solchen abgeschlossenen Eiterhöhlen ausserordentlich langsam verlaufen muss.

In meinen früheren Publicationen habe ich mehrfach hervorgehoben, dass die Fäulniss bewirkenden Mikroorganismen nicht allein im Darmrohr, sondern deren Keime auch in lebendigen, gesunden Geweben des Thierkörpers enthalten seien; zumeist in den beiden, durch ihre Ausführungsgänge mit dem Darmrohr communicirenden Drüsen, dem Pankreas und der Leber. Dagegen habe ich stets betont, dass weder im Blute, noch in den Geweben gesunder Menschen oder Thiere jemals Fäulniss stattfindet. In Uebereinstimmung mit Nägeli glaube ich, dass, so lange die normalen chemischen und physikalischen Vorgänge in den Zellen des Thierkörpers verlaufen, eben diese Lebensprocesse der Zellen das Aufkommen des Lebens der Spaltpilze behindern. Nur in Höhlungen, Flüssigkeiten oder festen Geweben, wie im Darmkanal, pathologischen Exsudaten, sowie abgestorbenen oder krankhaft stark afficirten Geweben können die Spaltpilze, weil eine Concurrenz der thierischen Zellen nicht besteht oder zu schwach ist, entsprechend den gegebenen Ernährungsverhältnissen, sich vermehren und die ihnen eigenthümlichen Produkte bilden. Als Bestätigung dieser Ansicht

können die beiden oben angeführten Fälle dienen. Wir sehen hier in dem kleinen Becken, resp. in der Pleurahöhle eine unzählige Menge von Coccen, welche, indem sie die Eiterkörperchen zersetzen, alle für die Fäulniss charakteristischen Produkte bilden. Dass aber in krankhaft afficirten Theilen nicht immer Fäulniss eintreten muss, beweist schon das häufige Vorkommen von pathologischen Flüssigkeiten, in denen weder Mikroorganismen, noch die charakteristischen Fäulnissprodukte zu finden sind.

Auf welchem Wege die Mikroorganismen in solche Theile unseres Körpers gelangen, wo von Luftzutritt nicht die Rede sein kann, bleibt vorläufig eine unbeantwortete Frage. Allein die Annahme halte ich für berechtigt, dass sie wie beim kranken, so auch beim gesunden Menschen vom Darme aus, vielleicht durch die Lymphgefässe, in die entlegensten Theile des Körpers gelangen können, und nur deshalb in gesunden Theilen keine Fäulniss bewirken, weil die Lebensprocesse der Zellen sie daran hindern. Dass die Fette vom Darme aus nicht als Seifen, sondern als Emulsion in Form kleinster Tröpfchen resorbirt werden, wird von Niemandem mehr bezweifelt. Weshalb sollten dann nicht auch die Coccen, deren Durchmesser zum Mindesten eben so klein oder noch kleiner ist, als der eines Fetttröpfchens, vom Darme aus in die Gewebe gelangen können? Es ist mir daher befremdend, dass das Vorkommen von Spaltpilzen oder deren Keimen in normalen Geweben des Thierkörpers trotz allen, namentlich von physiologischer Seite, hierfür beigebrachten Beweisen noch immer von den Mikrographen geläugnet wird. Es mag dies vielleicht dadurch bedingt sein, dass gerade das Blut, das nach meinen Beobachtungen in der Regel die wenigsten oder gar keine Spaltpilze enthält, am häufigsten daraufhin untersucht worden ist. Der gleiche Mikroskopiker[1]), welcher findet, dass selbst das destillirte Wasser fast niemals frei von Bacterien ist, giebt auf Grund seiner Untersuchungen mit Hülfsmitteln, die das Ueber-

[1]) Dr. Robert Koch, Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten. Leipzig 1878, S. 37 und 22.

sehen von Bacterien und ihre Verwechselung mit gleich grossen, körnigen Massen nicht zulassen (?), an, „dass die Bacterien im Blut und in den Geweben des gesunden thierischen sowohl, als menschlichen Organismus nicht vorkommen.“ Für mich bleiben die positiven Angaben von Tiegel, Burdon Sanderson u. A., sowie meine eigenen Beobachtungen mehr beweisend, als die negativen Erfolge, welche die wenigen bisherigen Versuche gehabt haben, Spaltpilze in normalen Geweben durch Färben mikroskopischer Schnitte nachzuweisen.

Zum Schluss spreche ich Herrn Dr. Schaffer meinen aufrichtigen Dank aus für den Eifer und die Geschicklichkeit, mit welchen er mich bei der Ausführung dieser Versuche unterstützt hat.

Bern, im April 1879.

Giebt es Bacterien oder deren Keime in den Organen gesunder lebender Thiere?

von

M. Nencki und **P. Giacosa.**

Unter diesem Titel veröffentlichen die Herren John Chiene und J. Cossar Ewart im Journ. of Anat. and Physiol. (Vol. 13, p. 448, April 1878) Versuche, auf Grund welcher sie die obige Frage mit — nein — beantworten. Wir haben durch die Publication dieser Herren uns veranlasst gesehen, dieselbe einer erneuten experimentellen Prüfung zu unterwerfen, und auf Grund unserer Versuche sagen wir, entgegen den Herren Chiene und Ewart — ja, es giebt Bacterienkeime in den gesunden Geweben lebender Thiere. Dass wir zu diesem Ausspruche berechtigt sind, soll in Folgendem bewiesen werden.

Den Fachgenossen auf diesem Gebiete ist es bekannt, dass der Streit: ob Bacterien, resp. deren Keime in gesunden

Geweben lebender Thiere constant vorkommen, nicht neu ist. Es ist namentlich A. Béchamp in Montpellier, welcher in den letzten 20 Jahren in einer Reihe von Publicationen das Vorkommen von Mikrococcen (von ihm Microzymas genannt) in gesunden Geweben lebender Thiere constatirte und ihre Umwandlung im todten Gewebe (en dehors de l'économie) zu Torulaformen und Stäbchen (Bacterien) beschrieb. Nach unserer Ansicht liegt aber das Falsche in den Arbeiten Béchamp's darin, dass er die Coccen (Mikrozymas) als einen nothwendigen Bestandtheil der thierischen Zelle auffasst. Nach ihm bewirken die Mikrozymas die chemischen Processe in den Zellen und sind sogar „faiseurs de cellules". Zu dieser letzteren Behauptung wurde A. Béchamp veranlasst durch seine später von Pasteur als unrichtig bewiesene Beobachtung, dass aus den Mikrozymas Hefezellen entständen. Béchamp also, weil er eben die Mikrococcen als für die Thierzellen nothwendig auffasste, hat ihren parasitären Charakter verkannt. Deshalb wurden seine häufig unbewiesenen und den herrschenden Vorstellungen widersprechenden Ansichten, namentlich nachdem man ihm Ungenauigkeit im Beobachten nachgewiesen, entweder mit Misstrauen aufgenommen oder auch gänzlich ignorirt. Es hiesse jedoch das Kind mit dem Bade ausschütten, wollte man die verschiedenen in Montpellier angestellten und durch die Theorien Béchamp's veranlassten Arbeiten unbeachtet lassen. So finden wir in dem von Joseph Béchamp herausgegebenen Buche: „Les Microzymas. Montpellier et Paris 1875, p. 22" auch die Angabe, dass M. Servet, préparateur de M. Estor, a fait dans le laboratoire de ce professeur l'expérience suivante: Des organes divers, pris sur le vivant, sont plongés dans une solution d'acide chromique, c'est à dire dans un milieu où rien ne peut vivre, et examinés quelques temps après. La surface durcie laisse apercevoir les tissus normaux inaltérés; l'intérieur de ceux-ci protégés à la fois par la dissolution d'acide chromique et par la surface coagulé de l'organe, des bactéries à divers degrés de développement.

Unabhängig von den französischen Experimentatoren und hauptsächlich zu ihren Untersuchungen durch die Doc-

trinen der neueren Pathologie veranlasst, haben in Deutschland Billroth und Tiegel[1]) die These vertheidigt, dass im Gewebe und Blute lebender gesunder Thiere Spaltpilzkeime vorhanden seien. Die Versuchsanordnung Tiegel's war folgende: Die zu untersuchenden Organe oder durch einen glatten Messerschnitt getrennte Stücke derselben wurden einem eben getödteten, meist durch die Carotis entbluteten Thiere entnommen, möglichst rasch an einen vorher gut ausgekochten Seidenfaden gebunden und in 110—115° heisses, geschmolzenes Paraffin, je nach der Grösse des Stückes längere oder kürzere Zeit eingetaucht. Nachdem das an der Oberfläche haften gebliebene Paraffin erkaltet war, wurde das Eintauchen wiederholt, das Präparat jedoch sehr rasch wieder herausgenommen, um die anhaftende Paraffinkruste nicht wieder abzuschmelzen. Nur in der Absicht, die Paraffinkruste zu verstärken, wurde das Eintauchen noch einige Male wiederholt. Nachdem auch die letzte Schicht erkaltet war, wurde das ganze Präparat in eine grössere, eben im Erstarren begriffene (52° warme) Paraffinmasse versenkt und mit dieser erkalten gelassen. Die so erhaltenen Klötze wurden nach ihrem Erkalten eine bestimmte Zeit lang bei Temperaturen von etwa 30° aufbewahrt, dann zerschlagen und ihr Inhalt untersucht. Das starke Brühen der Organe sollte die von Aussen her auf die Oberfläche aufgefallenen Keime zerstören, und auch solche, die möglicherweise in der Zeit von der Eröffnung des Thieres bis zum Brühen schon bis zu einer gewissen Tiefe in das Organ eingedrungen sind. Es wurde nun folgendes allgemeine Resultat gewonnen. In Pankreas, Leber, Milz, Speicheldrüsen, Hoden, im Muskelfleisch und im Blut können sich, wenn die Klötze in einer Temperatur zwischen 20—30° gestanden haben, in der angegebenen Zeit von 4—12 Tagen Bacterien entwickelt haben. Am häufigsten ist dies der Fall mit dem Pankreas und finden sich in ihm auch verhältnissmässig die meisten Bacterien; am seltensten und in der geringsten Anzahl finden sie sich im Blute vor.

[1]) Virchow's Archiv **60**, 453.

Obgleich Tiegel den Einwand, dass beim Erkalten der Paraffinklötze sich Risse und Sprünge bilden, wodurch das Eindringen von Bacterien aus der Luft ermöglicht wäre, berücksichtigte und ihn zu umgehen suchte (siehe S. 464 seiner Abhandlung), so wird doch dieser Umstand von den Mikrographen immer von Neuem als gegen die Zuverlässigkeit der Tiegel'schen Versuche sprechend, erhoben.[1]) Wir wollen deshalb hier hervorheben, dass Dr. Burdon Sanderson[2]) die Tiegel'schen Versuche in der Weise wiederholte, dass das herausgenommene Organ sofort in auf 110° erhitztes Paraffin hineingeworfen wurde. Sobald die Masse erstarrte, wurde die Oberfläche mit venetianischem Terpentin bedeckt, um gegen die Möglichkeit der Inficirung, die beim Zerbersten der sich abkühlenden Paraffinoberfläche geschehen könnte, zu schützen. In einigen Versuchen wurde Oel bei der gleichen Temperatur als Ersatzmittel für das Paraffin angewendet. Burdon Sanderson giebt an, dass wenn nach 1—2 Tagen das zu Boden des Gefässes gefallene Organ aus dem Paraffin herausgenommen wird, die Oberfläche desselben in Folge der Hitze geronnen ist. Der centrale Theil aber hatte die blassrothe Farbe des ungekochten Gewebes und enthielt reichlich Bacterien in den verschiedenen Stadien ihrer Entwicklung.

Hauptsächlich nun deshalb, weil die antiseptische Methode Lister's der Wundbehandlung so ausgezeichnete Erfolge aufzuweisen hat, war es den Herren J. Chiene und Cossar Ewart, trotz der Versuche Tiegel's und Sanderson's, nicht wahrscheinlich, dass die gesunden Organe lebender Thiere Bacterienkeime enthalten könnten. Nach Lister's Verfahren wird bekanntlich jede chirurgische Operation unter Verstäubung einer 5proc. Phenollösung ausgeführt. Die letztgenannten Autoren gingen daher von der Voraussetzung aus, dass in der Zeitdauer zwischen Herausnahme des Organs und Eintauchen in Paraffin Bacterienkeime aus der Luft auf die Gewebe fallen und so nachher

---

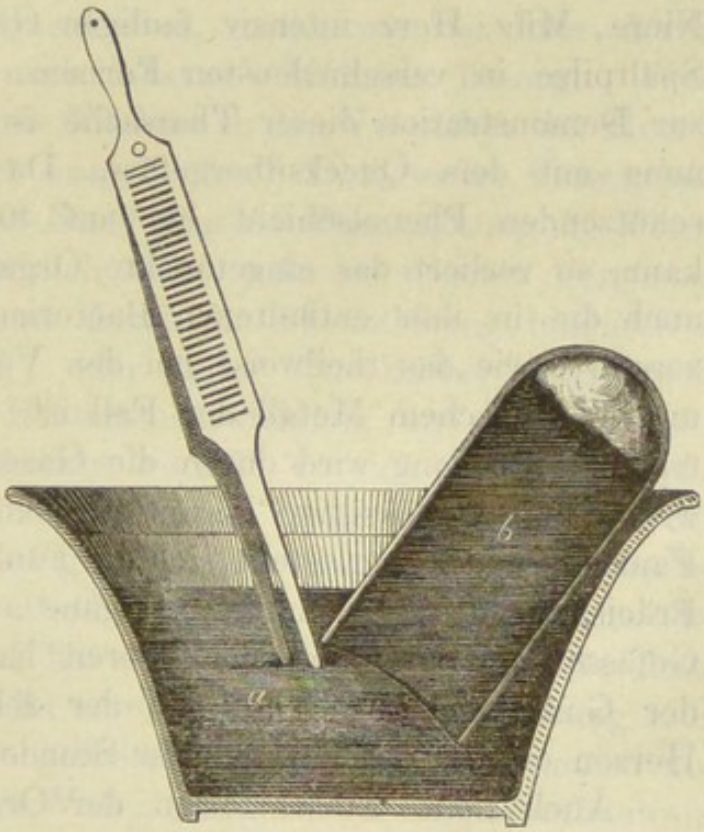
[1]) Koch, Aetiologie d. Wundinfectionskrankheiten. Leipz. 1878.
[2]) British Medical Journal, Jan. 26, 1878.

die Fäulniss bewirken können. Dies sollte durch Anwendung des antiseptischen Verfahrens verhütet werden. Ihre Versuchsanordnung war daher folgende: Unter fortwährendem Verstäuben einer 5proc. Phenollösung wurde einem soeben getödteten Kaninchen die Bauchhöhle geöffnet und die Leber, Milz, Nieren und Pankreas herausgenommen. Die Leber wurde in mehrere Stücke zerschnitten, einige Stücke in antiseptische (d. h. in Phenollösung getränkte), andere dagegen in unpräparirte Gaze gewickelt; wieder andere wurden in ausgeglühte Gefässe gethan, welche entweder durch Wolle, Gaze oder Glasdeckel beschützt wurden. Aehnlich verfuhr man mit den anderen Organen. Nach drei Tagen wurden die Organe untersucht und es zeigte sich, dass in all den Theilen, die in antiseptische Gaze gewickelt waren, keine Spur von irgend welchen ausgebildeten Bacterien zu finden war. Isolirte, bewegliche Körnchen waren zahlreich vorhanden, ihre Bewegung war aber eine einfach moleculare (Brownian nature). Die Herren Chiene und Ewart ziehen daher den Schluss, dass wenn die Organe augenblicklich nach dem Tode mit antiseptischen Vorsichtsmaassregeln behandelt werden, dann keine Spur von Bacterien zu finden sei; folglich auch weder Bacterien, noch deren Keime in den gesunden Organen der Thiere während des Lebens bestehen. Ist nun dieser Schluss berechtigt?- Hindert das Einwickeln in die antiseptische Gaze auch nicht die Entwicklung der in den Geweben selbst enthaltenen Bacterienkeime?

Wir haben folgende Versuche angestellt:

In einem Becherglase von etwa $^1/_2$ Liter Inhalt wurde leichtflüssige, bei 75° schmelzende Metalllegirung (Wood'sches Metall) auf 300—400° erhitzt. Sobald die Legirung auf etwa 150° erkaltete, wurde darauf eine Schicht 5proc. Phenollösung vorsichtig gegossen und durch Einstellen des Gefässes in kochendes Wasserbad das Metall flüssig erhalten. Hierauf wurde einem Kaninchen, dem vorher die Bauchwand geschoren und mit Phenollösung abgewaschen war, unter Phenolstäuben (5proc. Lösung) die Bauchhöhle geöffnet, ein grösseres Stück Leber herausgeschnitten, dasselbe mit einer Pincette gefasst, in die Wood'sche Legirung eingetaucht

und so lange hinabgedrückt, bis das erkaltende Metall fest um das Gewebe und die Pincette erstarrte. Sodann liessen wir das Ganze bis zu 4 Tage lang bei 40° stehen. Dass das Metall beim Erstarren Sprünge oder Risse bekommen würde, war nicht zu befürchten; aber auch für den Fall befand sich über dem Metall ununterbrochen eine 3—5 Ctm. hohe Schicht einer concentrirten Phenollösung, die jedes Eindringen von Keimen aus der Luft unmöglich gemacht haben würde. Eine höchst einfache und nicht minder tadellose Versuchsanordnung war folgende: Ein grösseres, eisenemaillirtes Gefäss (*a*) (siehe beistehende Zeichnung) wurde bis zu zwei Drittel mit reinem Quecksilber gefüllt. Hierauf wurde ein 5 Ctm. weites Glasrohr, dessen eines Ende rund zugeschmolzen, das andere aber offen und glatt abgeschliffen war, ebenfalls mit reinem Quecksilber gefüllt, mit einer Glasplatte geschlossen und in das Gefäss (*a*) eingetaucht, hierauf das Ganze erhitzt, bis das Gefäss (*b*) etwa bis zu einem Dritttheil mit Quecksilberdampf erfüllt war. Wenn demnach irgend welche Bacterienkeime in dem Cylinder (*b*) enthalten gewesen wären, müssten sie sicher durch das siedende Quecksilber zerstört worden sein. Man liess nun erkalten, wobei sich das Quecksilber wieder in dem Cylinder (*b*) condensirte, und als die Temperatur in dem Aussengefässe etwa 120° hatte, wurde es mit einer 5proc. Phenollösung über-



gossen. Unter den gleichen Cautelen und Anwendung des ganzen antiseptischen Apparates wurde irgend ein inneres Organ einem soeben getödteten Kaninchen (Leber, Herz, Niere, Milz) entnommen und mit einer Pincette in das für den Moment etwas schief geneigte Gefäss (*b*) geführt, wo es nach oben stieg und daselbst verblieb. Der Apparat wurde dann ebenfalls ein bis mehrere Tage lang bei 40° stehen gelassen.

Das Ergebniss von auf die eine oder andere oben angeführte Weise angestellten Versuchen war immer zu Gunsten der Annahme, dass in dem gesunden Gewebe lebender Thiere Bacterien enthalten sind. Schon nach 24stündigem Stehen bei 40° zeigten alle die untersuchten Organe, wie Leber, Niere, Milz, Herz intensiv fauligen Geruch und unzählige Spaltpilze in verschiedensten Formen. Besonders geeignet zur Demonstration dieser Thatsache ist die Versuchsanordnung mit dem Quecksilbergefäss. Da das Hg unter der schützenden Phenolschicht bis auf 40° abgekühlt werden kann, so verliert das eingetauchte Organ kein Wasser, und auch die in ihm enthaltenen Bacterienkeime werden nicht zerstört, wie das theilweise bei den Versuchen mit Paraffin und Wood'schem Metall der Fall ist. Der Beginn der putriden Zersetzung wird durch die Gasentwicklung angezeigt, welche das Quecksilber herunterdrückt. Bei Organen, wie Pankreas und Leber, stellt sich die Fäulniss mit der gleichen Präcision ein, wie wenn diese Organe an der Luft in offenen Gefässen ständen. Bei den Nieren haben wir den Beginn der Gasentwicklung schon in der zehnten Stunde, beim Herzen erst in der achtzehnten Stunde gesehen.

Auch beim Einschmelzen der Organe in Wood'sches Metall stellt sich die Fäulniss regelmässig ein, vorausgesetzt, dass das Organ nicht zu klein war. Als wir nach 2—3 Tagen das Metall auf dem Sandbade wieder schmolzen, waren die Gewebe, wie z. B. Leber, Niere, mit verschiedenen Formen lebhaft beweglicher Spaltpilze erfüllt. Kleinere Organe, wie Kaninchenpankreas oder Milz, eignen sich zu diesen Versuchen nicht; denn obgleich wir nach dem Eintauchen der Milz das Metall möglichst rasch abkühlten, so

fanden wir doch beim Aufschmelzen der Legirung das Organ ganz durchkocht und folglich auch keine Bacterien. Da die Herren Chiene und Ewart das negative Ergebniss ihrer Versuche der Anwendung der antiseptischen Methode zuschreiben, so halten wir es für nöthig, hervorzuheben, dass in unseren Versuchen dem Lister'schen Verfahren volle Rechnung getragen wurde. Alle zu den Versuchen verwendeten Gefässe wurden vorher mit 5proc. Phenollösung abgewaschen; ebenso wurden die Instrumente direct aus einer 5proc. Phenollösung herausgenommen. Prof. Kocher, Director der hiesigen chirurgischen Klinik, der an diesen Versuchen lebhaften Antheil nahm, hat häufig die Herausnahme der Organe und Eintauchen derselben, sei es in Wood'sches Metall oder unter Quecksilber, genau wie bei einer chirurgischen Operation nach Lister's Methode besorgt. Weshalb ist denn aber die Fäulniss in den Versuchen der Herren Chiene und Ewart ausgeblieben? Dass weder Verstäuben, noch eine momentane Berührung mit Phenollösung die Keime in den Geweben gänzlich tödtet, geht aus unseren Versuchen hervor, wo die Organe durch die Phenollösung hindurch in Wood'sches Metall, oder unter Quecksilber eingebracht wurden und doch Bacterienentwicklung und übler Geruch eingetreten sind. Anders verhält es sich wohl, wenn das Bacterienkeime enthaltende Organ längere Zeit hindurch mit einem mit Phenollösung getränkten Gegenstande in directer Berührung bleibt. Prof. Kocher hat die Versuche der Herren Chiene und Ewart wiederholt und ihre Resultate bestätigt gefunden. Es wurde unter Phenolverstäubung z. B. Leber einem frisch getödteten Kaninchen entnommen und in Phenolgaze, sodann Watte, schliesslich Transparentleinwand eingewickelt und bei 40° 2 Tage lang gehalten. Nach Verlauf dieser Zeit zeigte die Leber keine Fäulniss, weder Bacterien, noch üblen Geruch. Als wir aber die Leber, die einen schwachen Geruch nach Phenol besass, mit etwas Wasser abspülten und das filtrirte Spülwasser durch Erhitzen bis zum Sieden enteiweissten, so gab das eiweissfreie Filtrat, mit Bromwasser versetzt, einen reichlichen Niederschlag von Tribromphenol. — Weshalb also in diesem

Falle die Fäulniss ausgeblieben ist, war klar. Wir wiederholten den Versuch vollkommen ceteris paribus, nur mit dem einzigen Unterschiede, dass die herausgenommene Leber, statt direct in Phenolgaze eingewickelt zu werden, zwischen zwei genau auf einander passende Uhrgläser, die vorher in Phenollösung lagen, und dann über freier Flamme rasch getrocknet wurden, gebracht wurde. Nach 2 Tagen waren in der Leber neben Coccen und Streptococcen Stäbchen und Köpfchenbacterien vorhanden. Damit dieser letzte Versuch gelingt, ist es nothwendig, dass die Uhrgläser nicht zu klein und gut auf einander geschliffen sind.

Die Herren Chiene und Ewart führen einen Versuch an, wo sie in eine Niere durch die Nierenarterie eine bacterienhaltige Lösung einspritzten, und in antiseptische Gaze einwickelten. In dieser Niere fand Fäulniss statt. Dieser Versuch kann aber eigentlich nicht als Controlversuch gelten, denn zur Tödtung bereits entwickelter Bacterien sind jedenfalls grössere Mengen Phenol nöthig, als wie zur Abhaltung der Entwicklung von in Geweben enthaltenen Keimen.

Es ergiebt sich hieraus, dass obgleich die Bacterienkeime in den Geweben lebender Thiere constant vorkommen, die antiseptische Wundbehandlung durchaus begründet ist. Unser Verständniss der ausgezeichneten Erfolge des Lister'schen Verfahrens wird dadurch nur klarer, denn wir finden, dass nicht allein durch das Verstäuben des Phenols während der Operation und durch Anlegen des antiseptischen Verbandes die in der Luft vorhandenen Keime abgehalten werden, sondern dass auch durch Imbibition der Wunde von dem Verbande aus mit der fäulnisswidrigen Substanz die im Gewebe selbst enthaltenen Keime unschädlich gemacht werden.

Untersucht man bei starken Vergrösserungen die Gewebe, z. B. Leber oder Pankreas soeben getödteter Thiere, so findet man um die Zellen herum in grosser Menge kleine Kügelchen von 0,5—2 Mikrometer im Durchmesser. Sie wurden früher „körniger Detritus“ genannt. In dem Buche von Béchamp sind diese Körnchen abgebildet und als Mi-

krozymas bezeichnet. Wie der eine von uns[1]) schon früher hervorgehoben hat, finden sich jedoch in frischen, gesunden Geweben keine entwickelten Formen der Spaltpilze, wie etwa Stäbchen oder Ketten von Coccen oder Bacterien. Erst 2—4 Stunden nach dem Tode werden die Torulaformen und noch später die cylindrischen Stäbchen sichtbar. Wir sind deshalb geneigt anzunehmen, dass in den gesunden Geweben lebender Thiere nicht fertig entwickelte Bacterien, sondern vorwiegend deren Keime (Sporen) enthalten seien. Wenn aber aus kleinen Kügelchen (Sporen) sich später Stäbchen entwickeln, so ist damit nicht gesagt, dass sie alle als Sporen von Mikrobacterien oder Bacillen zu betrachten seien. Vor Kurzem[2]) hat der eine von uns aus einem eitrigen, pleuritischen Exsudat die charakteristischen Fäulnissprodukte, wie Indol und Phenol dargestellt, während die in dem Eiter vorhandenen Organismen einzig und allein durch die Kügelchen von 0,5—1 Mikrometer im Durchmesser repräsentirt waren. Eine Unterscheidung zwischen den Mikrococcen und den als Sporen der Stäbchen zu betrachtenden Kügelchen ist vorläufig nicht möglich.

In unseren Versuchen betrug die Zeitdauer von der Eröffnung der Leibeshöhle des Kaninchens bis zum Eintauchen der Leber unter Quecksilber oder Wood'sches Metall nur 20—30 Secunden. Es ist schon deshalb höchst unwahrscheinlich, dass die nachher eingetretene Fäulniss durch Anfliegen von in der Luft enthaltenen Keimen bewirkt worden sei. Wäre dies der Fall, so müsste in der That die Luft mit Bacterien und ihren Keimen in einer Weise erfüllt sein, wie dies unseren bisherigen Erfahrungen gänzlich widerspricht. Es wäre dann vollständig unbegreiflich, dass bei einer derartigen Verbreitung der Spaltpilze und deren Keime gerade unsere Gewebe frei davon sein sollten. Wir haben absichtlich unsere Versuche in einem Zimmer ausgeführt, in welchem gar keine Untersuchungen über Spaltpilze angestellt

---

[1]) M. Nencki: Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pankreas. Bern 1876. S. 35.

[2]) Journ. f. prakt. Chem. [2] **19**, 355.

werden; auch die Kaninchen wurden nicht im Laboratorium gehalten, sondern stets frisch vom Markt zu den Experimenten geholt. Direct angestellte Versuche zeigten, dass in unserem Laboratorium, wo seit Jahren ununterbrochen Untersuchungen über Fäulniss angestellt werden, die Luft mehrere Stunden durch eine Nährlösung geleitet werden musste, ehe dieselbe mit Fäulnissbacterien inficirt wurde.[1])

In der Wissenschaft haben sich die Theorien nach den Thatsachen zu richten und nicht umgekehrt. Die Doctrinen der Pathologie müssen die Thatsache, dass die gesunden Gewebe lebender Thiere Bacterienkeime enthalten, anerkennen und sie beim Forschen nach den Ursachen der Infectionskrankheiten in Betracht ziehen. Es ist uns übrigens unverständlich, weshalb die Vertheidiger des „contagium vivum“ sich so sehr gegen die Anerkennung dieser Thatsache sträuben. Das Vorkommen der Keime gewöhnlicher Fäulnissbacterien beweist nicht, dass bestimmte pathogene Spaltpilze in den gesunden Geweben enthalten seien. Im Gegentheil, erst dadurch, dass es bewiesen ist, dass die Keime der gewöhnlichen Fäulnissbacterien in gesunden Geweben constant vorkommen, gewinnt die Ansicht, dass die Ursache verschiedener Infectionskrankheiten gewisse Formen der Spaltpilze sind, eine positive Basis. Denn wenn man weiss, dass die gewöhnlichen Fäulnissbacterien von den Athmungs- und Verdauungswerkzeugen aus in die sämmtlichen Gewebe unseres Organismus eindringen können, so ist die Lehre vom „contagium vivum“ nur eine nothwendige Consequenz davon.

Bern, im Juni 1879.

---

[1]) Vgl. auch F. Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. I. Bd. 3. Heft, S. 147.

Ueber die chemische Zusammensetzung der Fäulnissbacterien;

von

M. Nencki und **F. Schaffer.**

Seitdem Schwann und Cagniard de la Tour die Hefe als einzellige Organismen erkannt haben, sind zahlreiche chemische und physiologische Untersuchungen darüber ausgeführt worden. Wir brauchen nur an die Arbeiten von Schlossberger, Mulder, Mitscherlich u. A. und in neuerer Zeit an die von Pasteur und Schützenberger zu erinnern. Jeder Naturforscher weiss die Bedeutung der durch diese Arbeiten an's Licht gebrachten Thatsachen zu schätzen, und wir brauchen sie hier nicht besonders hervorzuheben. Anders verhält es sich mit unserer Kenntniss der chemischen Zusammensetzung der Spaltpilze. Ausser hier und da zerstreuten, vereinzelten Beobachtungen wissen wir so gut wie gar nichts hierüber. Die Sprosspilze bewirken vorzugsweise die Zersetzung der Kohlehydrate und gedeihen am besten in zuckerhaltigen Säften. Die Zahl aber der organischen Substanzen, welche durch Spaltpilze zersetzt werden, ist eine unbegrenzte. Nicht allein die Spaltung der Zuckerstoffe (die Milchsäure-, die Buttersäure- und die schleimige Gährung) und der Proteïnkörper (die Fäulniss) wird durch Spaltpilze bewirkt, sondern jede organische Verbindung, Kohlensäure und deren nächste Derivate ausgenommen, kann, sobald Ammoniak und gewisse Aschebestandtheile zugegen sind, als Nährlösung für die Spaltpilze dienen und wird durch sie zersetzt. Es ist nun von vornherein zu erwarten, dass die chemische Zusammensetzung der z. B. in einer Zuckerlösung gezüchteten Bacterien merklich verschieden sein wird von denen, die sich in einer Eiweisslösung vermehrten. Namentlich dieses Umstandes halber dürfte eine chemische Analyse der aus verschiedenen Nährlösungen gewonnenen Spaltpilze in vieler Hinsicht wichtig für die Kenntniss der biologischen Processe sein.

Der Grund, weshalb bis jetzt keine systematische chemische Untersuchung der Spaltpilze ausgeführt worden, lag weniger in der Schwierigkeit, diese Organismen in für Analysen hinreichender Menge zu gewinnen, als in der Unmöglichkeit, sie aus ihrer Nährlösung zu isoliren und frei von derselben zu erhalten. Es ist Jedermann bekannt, dass die Spaltpilze vermöge ihrer Kleinheit nicht allein durch die Filterporen hindurchgehen, sondern auch dieselben sehr bald verstopfen und so das Abfiltriren und Auswaschen der Nährlösung unmöglich machen. Die Hindernisse, die anfänglich unserem Vorhaben: die chemische Zusammensetzung der Bacterien zu erforschen, sich in den Weg stellten, waren übrigens mannichfach, und erst allmählich haben wir die so einfachen Methoden gefunden, um jene nicht allein in hinreichender Menge zu isoliren, sondern, sit venia verbo, sie in chemisch reinem Zustande darzustellen.

Eine gelegentliche Beobachtung, die wir bei der Destillation fauliger, bacterienhaltiger Flüssigkeiten mit verdünnter Schwefelsäure machten, hat uns zum Auffinden des Verfahrens geführt, nach welchem es gelingt, aus jeder bacterienhaltigen Flüssigkeit dieselben daraus abzuscheiden, so dass das Filtrat klar und vollkommen frei von Mikroorganismen ist. Wir haben nämlich gesehen, dass von Bacterien trübe Flüssigkeiten mit verdünnter Schwefelsäure zum Sieden erhitzt einen flockigen Niederschlag bildeten, welcher sich bald in compacteren Massen zu Boden absetzte, so dass die darüber stehende Flüssigkeit beim Filtriren ziemlich rasch und gänzlich klar durchlief. Die mikroskopische Untersuchung des flockigen Niederschlages belehrte uns, dass derselbe fast nur aus Spaltpilzen von gleicher Form und Grösse, wie in der ungekochten Lösung, und nur zu dichteren Gruppen zusammengefallen, bestand. Fortgesetzte Versuche haben gezeigt, dass die Abscheidung der Bacterien aus ihrer Nährlösung noch besser als durch verdünnte Schwefelsäure, durch verdünnte Salzsäure geschieht. Am zweckmässigsten setzt man der bacterienhaltigen Flüssigkeit so viel Salzsäure hinzu, dass sie 2—3 pCt. an freier Salzsäure enthält, sodann die Flüssigkeit aufkocht und nur einige Minuten sieden lässt.

Man sieht dann, dass die Bacterien zu compacten, weissen Flocken zusammenfallen, so dass die Flüssigkeit durchaus das Aussehen einer albuminhaltigen Lösung hat, aus welcher das Eiweiss durch Erhitzen coagulirt wurde. Je schleimiger und bacterienreicher die Flüssigkeit ist, um so weniger bedarf es der Säure und des Erhitzens, und kann in dem Falle statt Salz- auch Essigsäure angewendet werden. Als die schleimige Zoogloeamasse, deren Analysen unten mitgetheilt werden, in dem etwa 50fachen Gewichte Wasser vertheilt und mit einigen Ccm. concentrirter Essigsäure angesäuert wurde, schrumpfte sie schon in der Kälte zusammen und setzte sich in dickeren Massen am Boden des Becherglases ab, so dass ohne wesentlichen Verlust die darüber stehende Flüssigkeit abgegossen werden konnte, und die Zoogloeamasse auf ein Filter gebracht, durch Waschen mit Wasser von dem Rest der Nährlösung befreit wurde. Es wäre uns ohne die Kenntniss dieser Abscheidungsmethode der Spaltpilze unmöglich gewesen, die genauere Untersuchung der den Fäulnissbacterien eigenthümlichen und in ihnen in so grosser Menge enthaltenen Eiweisssubstanz auszuführen. Nach unseren mikroskopischen und chemischen Beobachtungen liegt die Ursache dieses Vorganges in der durch die Säuren bewirkten Schrumpfung des Schleimes, sowie auch derjenigen Materie, aus welcher die Zellmembran der Bacterien besteht. Durch die Einwirkung der Säuren, sei es in der Kälte oder beim Erhitzen, wird das specifische Gewicht der Bacterien grösser, sie schrumpfen, fallen zusammen und setzen sich deshalb in dicken Flocken am Boden des Gefässes ab. Aus gleichem Grunde kann das Auswaschen auf dem Filter der durch Säure abgeschiedenen Bacterien nur so lange fortgesetzt werden, bis der Niederschlag einen gewissen, allerdings sehr geringen Gehalt an Säure erreicht hat. Bei fortgesetztem Waschen quillt der Niederschlag wieder auf, das Filtrat wird trübe von durchlaufenden Bacterien, die dann auch die Filterporen verstopfen und weiteres Auswaschen unmöglich machen. Dieses Verhalten des Bacterienschleims und der zellmembranbildenden Materie erklärt uns, warum die saure Reaction einer Nährlösung einen so

schädlichen Einfluss auf den Verlauf der Fäulniss und der durch Spaltpilze bewirkten Gährungen ausübt. Die gebildete Säure tödtet sie, indem sie ihre Zellmembran schrumpfen macht. Nach den kürzlich publicirten Versuchen von Nadina Sieber[1]) hemmt schon der Gehalt von 2 pro Mille an freier Säure in einer Nährlösung die Fäulniss. Der Umstand ferner, dass Hefe und namentlich Schimmelpilze in viel saureren Nährlösungen gedeihen können, lässt darauf schliessen, dass die Zellmembran dieser Organismen besser den Säuren zu widerstehen vermag. Auf Tafel II sind die in einer Hefeabkochung, welcher das gleiche Volum 10proc. Zuckerlösung zugesetzt wurde, gefundenen Mikroorganismen abgebildet. Nach achttägigem Stehen an der Luft bei 40° wurde die Flüssigkeit schleimig, fadenziehend und hatte einen ammoniakalischen, fauligen Geruch angenommen. In Fig. Ia sind die darin vorhandenen unversehrten Spaltpilze abgebildet. Wie man sieht, bestehen sie in überwiegender Menge aus Mikrococcen von durchschnittlich 1 Mikrometer im Durchmesser. Fig. Ib stellt die gleichen Mikrococcen dar, nachdem die Flüssigkeit mit Salzsäure angesäuert und zum Sieden erhitzt worden, wobei sie sich in Form eines weissen flockigen Niederschlages, der sich bald zu Boden senkte, abgeschieden haben.

Durch die Einwirkung der Säure werden den Bacterien einige Bestandtheile entzogen; namentlich, wie dies von vornherein zu erwarten war, wird ein Theil der unorganischen Salze gelöst; auch geht in geringer Menge das Bacterieneiweiss (das Mykoproteïn s. u.) in die salzsaure Lösung über und kann daraus durch Eintragen von Steinsalz in Flocken abgeschieden werden. Die elementare Zusammensetzung der Bacterien wird aber durch die Behandlung mit Säure kaum merklich verändert. So z. B. ergaben in 2proc. Gelatinelösung gezüchtete Bacterien, daraus durch Erhitzen mit Salzsäure abgeschieden und durch Extraction mit Alkohol und Aether entfettet, folgende Zahlen:

---

[1]) Journ. f. prakt. Chem. [2] **19**, 433.

0,3178 Grm. im offenen Rohre im Sauerstoffstrome verbrannt hinterliessen 0,0104 Grm. Asche und gaben 0,5996 Grm. CO_2 nnd 0,2089 Grm. H_2O oder 53,19 % C und 7,55 % H aschefrei berechnet. Ferner 0,2526 Grm. = 0,2444 Grm. aschefrei gaben 32,5 Ccm. N-Gas bei 714 Mm. Bar. und 16° T. oder 14,58 % N aschefrei.[1]) Die auf der Oberfläche der gleichen Leimlösung entstandenen und nur mit verdünnter Essigsäure in der Kälte abgewaschenen, reifen, beweglichen Bacterien nach der Extraction mit Alkohol und Aether enthielten aber 5,03 % Asche und ergaben bei der Elementaranalyse 53,82 % C, 7,76 % H und 13,92 % N auf aschefreie Substanz berechnet.

Für die Gewinnung reiner und unversehrter Bacterien ist die Wahl der Nährlösung von wesentlicher Bedeutung. Eiweisslösungen eignen sich hierfür nicht, denn bei nachherigem Ansäuern oder Erhitzen der bacterienhaltigen Nährlösung werden mit dem Bacterienschleim stets coagulirte Eiweisspartikelchen mit niedergerissen; ausserdem werden in der Nährlösung durch das in Folge der Fäulniss gebildete Ammoniak basische Salze der alkalischen Erden in der schleimigen Flüssigkeit niedergeschlagen, wodurch der Aschegehalt der Bacterien falsch und unverhältnissmässig hoch gefunden wird. Aus dem letzteren Grunde sind auch Lösungen des käuflichen Tischlerleims, welcher über 3 % Asche enthält, als Nährflüssigkeit für Züchtung der Bacterien untauglich. Bacterien auf der Oberfläche einer 4proc. Tischlerleimlösung bei 40° gezüchtet und nach unten zu beschreibenden Methoden verarbeitet, enthielten z. B. in einem Versuche 12,93 % Asche, wesentlich aus phosphorsaurem Kalk und Magnesia neben kohlensaurem Kalk bestehend, so dass der Bacterienbrei mit Essigsäure angesäuert, unter Entweichung von Kohlensäure stark aufschäumte. Am geeignetsten für die Gewinnung der Bacterien erwies sich käufliche Gelatine, welche im Handel unter der Marke „Silberdruck“ bekannt ist. Feinere Gelatinesorten erwiesen sich als untauglich, vielleicht wegen ihres geringen Asche-

[1]) Sämmtliche in dieser Arbeit mitgetheilten Kohlen- und Wasserstoffbestimmungen wurden durch Verbrennung mit chromsaurem Blei und vorgelegtem metallischem Kupfer ausgeführt. Der Stickstoff wurde stets nach der Dumas'schen Methode durch Verbrennen mit Kupferoxyd bestimmt.

gehaltes. Die Qualität „extrafein“ enthält z. B. nur etwa 1 % Asche. Ausser auf Lösungen der Proteïnsubstanzen haben wir auch Bacterien in Lösungen einfacher, organischer Verbindungen gezüchtet und analysirt. Am geeignetsten hierzu erwiesen sich die Lösungen des neutralen schleimsauren Ammoniaks. Eine Lösung von 100 Grm. schleimsauren Ammoniaks in 3 Litern Wasser, welcher noch 2 Grm. saures phosphorsaures Kalium und je 1 Grm. Chlorcalcium, Chlornatrium und schwefelsaure Magnesia zugesetzt werden, mit etwa einem Ccm. einer fauligen Flüssigkeit versetzt, geht bei gewöhnlicher Temperatur sehr bald in Gährung über. Die anfangs auf der Oberfläche auftretende Pilzschicht wächst in die Tiefe, bis nach Verlauf von etwa 3 Wochen sie in eine schleimige, fadenziehende, von Mikrobacterien von 3—5 Mikrometer Länge durchsetzte Masse verwandelt wird.

Unser Verfahren zur Gewinnung der auf Gelatinelösung entstandenen Spaltpilze war nun folgendes:

500 Grm. Gelatine wurden in 25 Liter destillirten Wassers gelöst und der Flüssigkeit 30—50 Ccm. Pankreassaft als Bacterienaussaat zugesetzt. Der Saft wurde aus klein zerhacktem Ochsenpankreas, das mit Wasser zu einem dicken Brei angerührt worden, durch Pressen durch ein Tuch gewonnen. Die Flüssigkeit wurde nun in einer grossen irdenen Schale mit einem Pappdeckel lose zugedeckt, auf dem Wasserbade bei 30—40° stehen gelassen. In der Regel findet sich schon nach 24 Stunden an der Oberfläche eine dünne Haut, welche mit der Zeit an Dicke zunimmt, nach 3—4 Tagen zerreisst und in Fetzen zu Boden des Gefässes fällt. Die anfänglich auftretende Membran enthält noch keine differencirten Stäbchen, sie ist schleimig, fadenziehend, und mikroskopisch untersucht stellt sie das dar, was von F. Cohn als Zoogloea (Mycoderma Pasteur's) beschrieben worden ist. Eine gute Abbildung dieser Zoogloeaformen findet sich in F. Cohn's Beiträgen zur Biologie der Pflanzen, I. Bd., 2. Heft, Taf. III, Fig. 3 und 9. Zur Zeit, wo die oberflächliche Membran eine solche Dicke erreicht hat, dass sie einreisst, sind die in der Schleimmasse befindlichen Kügel-

chen zu lebhaft beweglichen, in Quertheilung begriffenen Stäbchen geworden. Diese an der Oberfläche entstehende Bacterienhaut liess sich wegen ihrer schleimigen Beschaffenheit mit einem aus sehr feinmaschigem Messingdraht gefertigten Löffel abheben und zunächst durch Abträufeln von dem grössten Theile der Nährlösung befreien. Wir haben nun die zähe schleimige Masse in Wasser vertheilt und mit etwas Essigsäure angesäuert. Es war dann leicht zu sehen, wie mit Säurezusatz der Bacterienbrei in dickeren, compacten Flocken sich am Boden des Gefässes absetzte. Die darüber stehende Flüssigkeit wurde abgegossen, der Bodensatz auf ein Filter gebracht und mit destillirtem Wasser ausgewaschen. Sobald der grösste Theil der Säure entfernt ist, quillt der Bacterienschleim von Neuem auf, verstopft die Filterporen und das Waschwasser läuft nicht mehr durch. Jetzt wurde der Bacterienbrei für kurze Zeit (1—3 Stunden) auf Fliesspapier ausgebreitet, bis das mechanisch anhängende Wasser eingesogen war. Die so von ihrer Nährlösung befreiten Bacterien stellen eine grauweissliche, manchmal blassrothe, geruchlose, schleimige Masse dar, frisch abfiltrirter Bierhefe ähnlich. Den Bacterienbrei haben wir in gewogene Porcellantiegel gebracht und anfangs auf dem Wasserbade, später im Luftbade bei 110° bis zu constantem Gewichte getrocknet. Beim Trocknen der Bacterien wird ein Geruch, ähnlich dem nach frischer Fleischbrühe, bemerklich. Die getrockneten Bacterien wurden nach dem Wägen fein gepulvert und zunächst mit Alkohol, sodann mit Aether so lange behandelt, bis nichts mehr dem Bacterienpulver entzogen wurde. Zu diesen Extractionen benutzten wir anfangs den von Drechsel[1]) empfohlenen Apparat. Jedoch zwei Uebelstände desselben, nämlich die leichte Zerbrechlichkeit des Seitenrohres, sowie die unpraktische Form der das Filter enthaltenden Kugel haben uns veranlasst, demselben eine einfachere Form zu geben, dessen Zeichnung wir hier beigeben, und der sehr zweckmässig ist. In das weithalsige

[1]) Journ. f. prakt. Chem. [2] **15**, 350.

Trichterrohr (*b*) wird das Filter sammt Niederschlag gebracht. Die aus dem Kolben (*a*) aufsteigenden Alkohol- oder Aetherdämpfe durchdringen die im Filter befindliche Substanz, und indem sie im Kühlrohr, das mittelst des Vorstosses (*c*) mit dem Trichterrohr verbunden ist, condensirt werden, fallen sie tropfenweise auf die zu extrahirende Substanz. Eine Verstopfung ist nie zu befürchten.

Der alkoholische Auszug wurde zur Trockne verdunstet, und der Rückstand mit reinem Aether aufgenommen. Es hinterblieb hierbei, jedoch stets nur in minimalen Mengen, eine amorphe, in Wasser lösliche, braune Materie, welche die Reactionen der Peptone zeigte. In den Aetherauszügen befand sich das Bacterienfett, das bei gewöhnlicher Temperatur fest ist und dessen Menge zwischen 6—8 % der trocknen Bacteriensubstanz schwankte. Die Elementaranalyse eines solchen ätherischen Auszuges ergab uns folgende Zahlen:

0,1406 Grm. des Fettes gaben 0,3740 Grm. CO_2 und 0,1485 Grm. H_2O oder 72,54 % C und 11,73 % H.

Während demnach der gefundene Wasserstoff mit dem durchschnittlichen Wasserstoffgehalte der thierischen und pflanzlichen Fette übereinstimmt, ist der Kohlenstoffgehalt um etwa 2,5 % niedriger gefunden worden. Es ist wahrscheinlich, dass ausser Fett noch andere, kohlenstoffärmere Substanzen in minimaler Menge den Bacterien durch Aether

entzogen werden. Nunmehr wurde in dem mit Alkohol und Aether extrahirten Bacterienpulver der Gehalt an Asche, sowie an Elementarstoffen bestimmt.

Es war für uns von Interesse zu erfahren, ob und welche Aenderung die Bacterien in ihrer chemischen Zusammensetzung erleiden, indem sie sich aus den Körnchen innerhalb der schleimigen Masse zu vollständig beweglichen Stäbchen entwickeln. Wir haben erwartet, dass diejenige Mycodermaschicht, in welcher keine Körnchen (Sporen), sondern nur bewegliche Stäbchen sind, weil sie eben weniger Schleim und hauptsächlich reife Bacterien enthält, bedeutend stickstoffreicher sein würde, als wie die zuerst erscheinende, sehr schleimige Zoogloeahaut. Aus den mitzutheilenden Analysen wird man ersehen, dass dem nicht so ist; denn wenn auch die Fehlergrenzen bei derartigen Analysen ziemlich weit sein mögen, so beweist die grosse Uebereinstimmung in dem gefundenen Stickstoffgehalte, dass der Schleim der Fäulnissbacterien nicht aus einer Celluloseart, sondern aus der gleichen Eiweisssubstanz besteht, welche den überwiegenden Bestandtheil der reifen Bacterien ausmacht. Die für Bacterien, welche in 2 % Gelatinelösung gezüchtet waren, in den verschiedenen Stadien ihrer Entwicklung erhaltenen Zahlen sind nun folgende:

1. Reine Zoogloeamasse.

Unter dem Mikroskope nur Körnchen, keine Stäbchen. Die Masse sehr schleimig und fadenziehend. 6,0442 Grm. dieser Zoogloeamasse bis zu constantem Gewichte getrocknet, verloren 5,129 Grm. Wasser oder 84,81 %. 0,8412 Grm. der trocknen Substanz lieferten 0,0664 Grm. Fett oder 7,89 % der trocknen Substanz.

0,2062 Grm. der entfetteten Substanz hinterliessen 0,0094 Grm. Asche oder 4,56 %.

0,3146 Grm. des gleichen Präparates gaben 39 Ccm. N-Gas bei 716 Bar. und 16,5° T. = 13,70 % N für die aschehaltige und 14,34 % für die aschefreie Substanz.

0,2373 Grm. des gleichen Präparates gaben 30 Ccm. Stickgas bei 710 Bar. und 17° T. = 13,79 % N-Gas für die aschehaltige und 14,6 % N-Gas für die aschefreie Substanz.

2. Bacterien, zur Hälfte aus Zoogloeamasse, zur anderen aber aus entwickelten beweglichen Stäbchen bestehend.

Die Masse schleimig, fadenziehend. 8,9118 Grm. davon hinterliessen 1,4412 Grm. trockner Substanz, oder der Wasserverlust war gleich 84,26 %. 3,4019 Grm. dieser trocknen Bacterien gaben 0,2182 Grm. Aetherextract = 6,41 %.

0,4065 Grm. des entfetteten Präparates hinterliessen im Platintiegel bis zu constantem Gewicht geglüht, 0,0132 Grm. Asche oder 3,25 %. 0,2548 Grm. des entfetteten Präparates = 0,2465 Grm. aschefreier Substanz gaben 0,4833 Grm. CO_2 und 0,1729 Grm. H_2O oder 53,07 % C und 7,79 % H. 0,2984 Grm. des gleichen Präparates = 0,2887 Grm. aschefrei gaben 37 Ccm. N-Gas bei 717 Bar. und 21° T. oder 13,82 % N.

3. Reife bewegliche Stäbchen.

Die Masse wenig schleimig und nicht fadenziehend. 8,5413 Grm. dieser Bacterien verloren 7,1249 Grm. Wasser oder 83,42 %. 1,838 Grm. der bei 110° getrockneten Bacterien mit Alkohol und Aether extrahirt gaben 0,1110 Grm. Fett oder 6,04 %. 0,3931 Grm. entfetteter Bacterien hinterliessen 0,0198 Grm. Asche oder 5,03 %. 0,2105 Grm. aschefreier Substanz gaben 0,4155 Grm. CO_2 und 0,1470 Grm. H_2O oder 53,82 % C und 7,76 % H. 0,2316 Grm. Substanz gaben 28 Ccm. N bei 16° T. und 708 Bar. oder 13,31 % N = aschefrei 14,02 %. 0,2097 Grm. Substanz gaben 25,5 Ccm. N-Gas bei 703 Bar. und 15° T. oder 13,15 % N = aschefrei 13,82 %.

Folgende Zusammenstellung erleichtert die Uebersicht der gewonnenen Resultate:

		Reine Zoogloeamasse.	Zoogloeamasse mit entwickelten Bacterien.	Reife Bacterien.
Wassergehalt		84,81 %	84,26 %	83,42 %
Fettgehalt der trocknen Substanz .		7,89 „	6,41 „	6,04 „
Aschegehalt d. entfetteten Substanz		4,56 „	3,25 „	5,03 „
Elementare Zusammensetzung der entfetteten Substanz aschefrei berechnet.	C	—	53,07 „	53,82 „
	H	—	7,79 „	7,76 „
	N	14,34 „ u.14,60 „	13,82 „	14,02 „ u.13,82 „

Die Bestimmungen des Wassergehaltes stimmen gut unter einander überein und zeigen gegen unsere Erwartung, dass der Wassergehalt der Zoogloeamasse im Vergleich zu dem der entwickelten Bacterien ein kaum merklich grösserer ist. Sie hat ferner relativ den höchsten Fettgehalt, und auch für den Stickstoffgehalt wurden merklich grössere, ausserhalb der Fehlergrenze liegende Zahlen erhalten.

Wir haben zu diesen Analysen die an der Oberfläche der Nährlösung befindlichen Bacterien verwendet. Da die in der Flüssigkeit selbst schwimmenden Bacterien nur durch Aufkochen mit Salzsäure abgeschieden werden konnten, so haben wir befürchtet, dass die Salzsäure in der Siedhitze den Spaltpilzen gewisse Bestandtheile entziehen und dadurch ihre elementare Zusammensetzung beeinflussen würde. Es ist dies allerdings nur in sehr beschränktem Grade der Fall, denn die oben erwähnten, durch Erhitzen mit Salzsäure gefällten Bacterien enthielten nach der Extraction mit Alkohol und Aether noch 3,27 % Asche und ergaben 53,19 % C, 7,55 % H und 14,58 % N aschefrei berechnet. Wir verwendeten daher die nach Abheben der oberen Mycodermaschicht aus der faulenden Gelatinelösung durch Erhitzen mit Salzsäure abgeschiedenen Bacterien vorzugsweise zur Untersuchung der näheren Bestandtheile der Spaltpilze, was auf folgende Weise geschah.

Die mit Alkohol und Aether extrahirten Bacterien, welche eine weisslichgraue, ein wenig verfilzte Materie darstellen, haben wir, um die darin enthaltenen Proteïnsubstanzen in Lösung zu bringen, mit verdünnten Alkalien behandelt. Wir machten hierbei die Beobachtung, dass die entfetteten Bacterien mit etwa dem 50fachen Gewichte 0,5 % Kalilösung auf dem Wasserbade mehrere Stunden digerirt, sich bis auf einen geringen Rest darin auflösen. Eine Ammoniak- oder Schwefelwasserstoffentwicklung war dabei nie zu bemerken. Wird von den Bacterien nichts mehr gelöst, was leicht daran zu erkennen ist, dass die anfangs sich zu Boden setzende Masse verschwindet und nur eine gleichmässige Trübung durch die ganze Flüssigkeit bleibt, so kann durch Filtriren durch gewöhnliches Filtrirpapier die geringe

Menge der nicht gelösten Substanz von der Lösung getrennt werden. Die ersten Ccm. des durchgelaufenen Filtrats sind ein wenig trübe, sehr bald aber verstopfen sich die Filterporen und das Filtrat ist dann vollkommen klar. Die klar durchlaufende Flüssigkeit wird in einem anderen Becherglas aufgefangen, und die erste trübe durchgelaufene Partie auf das gleiche Filter aufgegossen. Es ist zweckmässig, 3—4 kleinere Filter aufzustellen, um innerhalb 24 Stunden etwa 500 Ccm. vollkommen klaren Filtrates, entsprechend 10—15 Grm. gelöster Bacterien, zu erhalten. Dieses Filtrat enthält in Lösung in überwiegender Menge eine eigenthümliche Eiweisssubstanz, die wir Mykoproteïn nennen werden. Diese Eiweissmaterie bildet der Menge nach den wesentlichen Bestandtheil der Bacterien. Wir haben sie aus Bacterien verschiedenster Formen und aus verschiedensten Nährlösungen erhalten und analysirt; so aus mit Zucker versetzten Hefeabkochungen, aus Lösungen des weinsauren, des schleimsauren Ammoniaks und der Proteïnsubstanzen. Das Mykoproteïn bildet ebenfalls einen constanten Bestandtheil der Bierhefe, und fortgesetzte Untersuchungen werden vielleicht zeigen, dass es in allen niedrigen Pilzen enthalten ist. Aus der klaren alkalischen Lösung wird das Mykoproteïn ziemlich vollständig auf folgende Weise erhalten: Man versetzt die Flüssigkeit mit verdünnter Salzsäure. So lange das Alkali noch nicht neutralisirt ist, entsteht ein Niederschlag, der beim Umrühren wieder verschwindet. Ist die Flüssigkeit mit Säure übersättigt, und wird sie jetzt mit concentrirter Kochsalzlösung versetzt, so fällt das Mykoproteïn in weissen amorphen Flocken aus. Noch vollständiger gelingt die Abscheidung, wenn in die schwach salzsaure Lösung Krystalle von Steinsalz bis zur Sättigung eingetragen werden. Das abgeschiedene Mykoproteïn wird auf ein Filter gebracht und so lange mit gesättigter Kochsalzlösung ausgewaschen, bis das Filtrat nur sehr schwach saure Reaction zeigt. Auch nach lange fortgesetztem Waschen verlor das ablaufende Filtrat die saure Reaction nicht. Die Substanz wurde anfangs auf Fliesspapier, sodann im Luftbade bei 100° getrocknet. Um das Mykoproteïn von der Hauptmenge des

zugleich ausgeschiedenen Kochsalzes zu befreien, haben wir die getrocknete Masse mit wenig Wasser übergossen, wobei sich das Kochsalz zuerst auflöste, während das in Wasser ebenfalls leicht lösliche Mykoproteïn erst darin aufquillt und alsdann in Lösung geht. Durch rasches Filtriren oder auch Abgiessen konnte der grösste Theil des Kochsalzes entfernt werden, so dass das analysirte Präparat nur noch 4—8 % Asche enthielt. Die Substanz wurde nun bei 110° bis zu constantem Gewichte getrocknet und analysirt.

0,3176 Grm. aschehaltiger Substanz im offenen Rohre im Sauerstoffstrome verbrannt, hinterliessen 0,0269 Grm. Asche oder 8,47 %, und ergaben 0,5567 Grm. CO_2 und 0,1919 Grm. H_2O oder 52,23 % C und 7,34 % H der aschefreien Substanz. Ferner 0,2671 Grm. des gleichen Präparates = 0,2445 Grm. aschefreier Substanz gaben 33,3 Ccm. N-Gas bei 717,4 Mm. Bar. und 20° T. oder 14,8 % N-Gas, aschefrei.

0,2996 Grm. = 0,2806 Grm. der aschefreien Substanz gaben 0,5403 Grm. CO_2 und 0,1878 Grm. H_2O oder 52,47 % C und 7,43 % H. Ferner 0,1992 Grm. = 0,1866 Grm. aschefrei des gleichen Präparates gaben 0,360 Grm. CO_2 und 0,1321 Grm. H_2O, oder 52,6 % C und 7,8 % H. Ferner 0,3118 Grm. = 0,292 Grm. aschefrei des gleichen Präparates gaben 39 Ccm. N-Gas bei 714 Mm. Bar. und 16,5° T. oder 14,55 % N aschefrei.

0,2045 Grm. = 0,1937 Grm. aschefrei eines anderen Präparates gaben 26 Ccm. N-Gas bei 711 Mm. Bar. und 13° T., sonach aschefrei berechnet 14,80 % N.

Wir fügen hier noch eine Analyse des Mykoproteïns hinzu, dargestellt aus Bacterien, welche in der oben erwähnten Lösung des schleimsauren Ammoniaks entstanden sind. Sie wurden ähnlich, wie die Gelatinebacterien, durch Erhitzen der Nährlösung mit Salzsäure abgeschieden und mit Alkohol und Aether extrahirt. Die entfetteten Bacterien haben wir in Kali gelöst und aus der mit Salzsäure übersättigten Lösung das Mykoproteïn durch Eintragen von Steinsalz gefällt.

0,3332 Grm. dieses Mykoproteïns im offenen Rohre im Sauerstoffstrome verbrannt, hinterliessen 0,0158 Grm. Asche und lieferten 0,6068 Grm. CO_2 und 0,216 Grm. H_2O oder 52,13 % C und 7,54 % H aschefrei berechnet. Ferner 0,2775 Grm. aschefrei des gleichen Präparates gaben 37,8 Ccm. N-Gas bei 719,5 Mm. Bar. und 15° T. oder 14,91 % N.

Da das Mykoproteïn in verdünnten Säuren, namentlich

beim Erwärmen, leicht löslich ist, und wir gesehen haben, dass beim Kochen, der entfetteten Bacterien mit 2—3 % Salzsäure ein Theil des in ihnen enthaltenen Mykoproteïns in Lösung ging und aus dem salzsauren Filtrate durch Eintragen von Kochsalz abgeschieden werden konnte, so haben wir — und zwar mit Erfolg — versucht, auf ähnliche Weise aus der Bierhefe das Mykoproteïn zu gewinnen. Folgendes Verfahren haben wir als das Zweckmässigste gefunden. Ein Pfund Presshefe wird in 4—5 Gewichtstheilen $2^1/_2$ proc. Salzsäure vertheilt und unter Umrühren auf dem Sandbade zum Sieden erhitzt. Man erhält die Flüssigkeit nur einige Minuten im Kochen, wobei sie sich bräunlich färbt, lässt erkalten und filtrirt den klaren salzsauren Auszug von dem Bodensatze ab. Werden jetzt in das Filtrat Krystalle von Steinsalz bis zur Sättigung eingetragen, so bildet sich in reichlicher Menge ein flockiger Niederschlag, der nunmehr auf's Filter gebracht, mit Kochsalzlösung ausgewaschen und im Extractionsapparate zuerst mit Alkohol, sodann mit Aether behandelt wird. Das nach dem Ausziehen mit Aether resultirende trockne Pulver wird, um das Kochsalz zu entfernen, mit Wasser gewaschen, bis die Eiweisssubstanz aufzuquellen beginnt. Nunmehr wurde die Substanz im Luftbade bei 110° bis zu constantem Gewichte getrocknet und analysirt.

0,2583 Grm. der Substanz im offnen Rohre im Sauerstoffstrome verbrannt, hinterliessen 0,0124 Grm. Asche oder 4,8 %, und gaben 0,4694 Grm. CO_2 und 0,1686 Grm. H_2O, oder 52,13 % C und 7,61 % H der aschefreien Substanz. Ferner 0,3192 Grm. = 0,3039 Grm. aschefrei gaben 40,7 Ccm. N-Gas bei 710 Bar. und 17° T. oder 14,70 % N aschefrei.

0,4801 Grm. eines anderen Präparates hinterliessen im Platintiegel geglüht 0,0925 Grm. Asche oder 19,29 %. 0,2243 Grm. dieses Präparates aschefrei gaben 0,4316 Grm. CO_2 und 0,1531 Grm. H_2O, oder 52,47 % C und 7,58 % H. Ferner 0,3352 Grm. = 0,2706 Grm. aschefrei gaben 36,5 Ccm. N-Gas bei 715 Bar. und 18° T. = 14,61 % N.

0,2097 Grm. eines anderen Präparates mit 7,9 % Asche = 0,193 Grm. aschefreier Substanz gaben 26,3 Ccm. N-Gas bei 720 Mm. Bar. und 18° T. oder 14,88 % N.

Da wir gesehen haben, dass das durch Eintragen von Steinsalz in den salzsauren Hefeauszug gefällte Mykoproteïn

in den Alkoholdämpfen schmilzt und sehr viel davon in Lösung geht, so haben wir versucht, das Fett, ohne vorherige Behandlung mit Alkohol, nur mit Aether zu extrahiren. Die Elementaranalysen der blos mit Aether ausgezogenen Präparate ergaben uns aber ganz andere Zahlen.

0,5055 Grm. der Substanz gaben 0,0402 Grm. Asche oder 7,95 %. 0,2892 Grm. = 0,2662 Grm. aschefrei gaben 0,5392 Grm. CO_2 und 0,1830 Grm. H_2O, oder 55,24 % C und 7,64 % H. Ferner 0,221 Grm. aschefrei des gleichen Präparates gaben 0,413 Grm. CO_2 und 0,1443 Grm. H_2O oder 55,37 % C und 7,88 % H.

0,2435 Grm. des gleichen Präparates = 0,2241 Grm. aschefrei gaben 28,2 Ccm. N-Gas bei 718 Mm. Bar. und 19° T. oder 13,65 % N, und 0,3027 Grm. = 0,2786 Grm. aschefrei gaben 35 Ccm. N bei 710 Mm. Bar. und 17° T. oder 13,60 % N aschefrei berechnet.

Durch Behandlung der gereinigten (d. h. mit Weingeist und Aether extrahirten) Hefezellen mit sehr verdünnter Kalilauge und Neutralisation des alkalischen Filtrates erhielt Schlossberger[1]) einen Eiweisskörper in Form eines flockigen Niederschlages, der sich nur in überschüssiger Essigsäure wieder löste, und dessen von Schlossberger ausgeführte Elementaranalysen mit den eben mitgetheilten gut übereinstimmen.

Schlossberger's Eiweisskörper.		Unser Präparat.	
C	55,53 %	C	55,24 und 55,37 %
H	7,50 „	H	7,64 „ 7,88 „
N	14,01 „ und 13,75 %	N	13,65 „ 13,60 „

Dieser Umstand lässt darauf schliessen, dass entweder durch Alkohol eine Spaltung des Schlossberger'schen Körpers in Mykoproteïn und eine kohlenstoffreichere Substanz stattfindet oder, was wahrscheinlicher ist, dass der Hefe durch Säure oder Alkali zwei verschiedene Eiweisssubstanzen entzogen werden, beide durch Kochsalz fällbar, von denen die kohlenstoffreichere und stickstoffärmere in Alkohol löslich ist, und so von der anderen (dem Mykoproteïn) getrennt werden kann. Allem Anscheine nach enthalten die Fäulnissbacterien, wenn auch in viel geringerer

[1]) Ann. Chem. Pharm. **51**, 205.

Menge, ebenfalls diese kohlenstoffreichere Substanz. Es wird dies durch den höheren Kohlenstoffgehalt der mit Alkohol und Aether extrahirten Bacterien (53,5 %) im Vergleich zu dem des Mykoproteïns angedeutet. Wir sind mit der Reingewinnung dieser kohlenstoffreichen, in Alkohol löslichen Materie beschäftigt. Sie kann etwa in gleicher Menge, wie das Mykoproteïn, aus dem salzsauren Auszuge der Hefe durch Eintragen von Kochsalz erhalten werden. Wir lassen hier die Zusammenstellung der für das Mykoproteïn verschiedenen Ursprungs erhaltenen Zahlen folgen.

	1. Aus Gelatinebacterien.			2. Aus Bierhefe.		3. Aus in schleimsaur. Ammoniak gezüchteten Bacterien.
C	52,23	52,47 und	52,60 %	52,13 u.	52,47 %	52,13 %
H	7,34	7,43 „	7,80 „	7,61 „	7,58 „	7,54 „
N	14,80	14,80 „	14,55 „	14,70	14,61 u. 14,88 %	14,91 „

Das Mittel aller Analysen ergiebt für das Mykoproteïn die procentische Zusammensetzung: C 52,32, H 7,55 und 14,75 N. Die einfachste aus diesen Zahlen abgeleitete Formel ist $C_{25}H_{42}N_6O_9$, welche 52,63 % C, 7,37 % H, 14,73 % N und 25,27 % O verlangt. Durch Schmelzen mit Kali und Salpeter des aus Bacterien dargestellten Mykoproteïns war darin kein Schwefel nachzuweisen. Aus 1,0032 Grm. Mykoproteïn (aschefrei) erhielten wir nach dem Auflösen der Schmelze in Salzsäure und Zusatz von Chlorbarium nach 24stündigem Stehen einen Bodensatz, der nach dem Glühen 0,0590 Grm. wog. Dieser Niederschlag wurde aber bei nachheriger Behandlung mit Salzsäure von der letzteren vollständig gelöst. Aehnliches Resultat erhielten wir bei Wiederholung der Bestimmung. Schlossberger (a. a. O. S. 205) giebt ebenfalls an, dass in seinem Hefeneiweiss kein Schwefel mehr vorhanden war. Auch Phosphor scheint das Mykoproteïn nicht zu enthalten. 0,5644 Grm. der Substanz mit reinem Kali und Salpeter geschmolzen, die Schmelze in Salzsäure gelöst, mit Ammoniak übersättigt und mit Magnesiamixtur gefällt

gaben einen Niederschlag, der nach dem Glühen 0,0208 Grm. wog, der aber nicht allein aus phosphorsaurer Magnesia bestand, sondern noch Eisen enthielt. Die geringe Menge der Phosphorsäure rührt jedenfalls von der Asche des Mykoproteïns her, die vorwiegend aus phosphorsaurem Kalk und Magnesia neben Eisen bestand.

Frisch aus seiner Lösung durch Steinsalz abgeschiedenes Mykoproteïn ist in Wasser, Säuren und Alkalien leicht löslich. Nach dem Trocknen bei 110° wird es aber vom Wasser nicht mehr vollständig gelöst. Die wässrige Lösung reagirt schwach sauer. Es gelang uns wenigstens nicht, durch langes Auswaschen die saure Reaction zum Verschwinden zu bringen. Auch Schlossberger erwähnt, dass sein aus der alkalischen Lösung durch Schwefelsäure gefälltes Hefeneiweiss bei achttägigem fleissigen Auswaschen noch immer nicht säurefrei war. In Lösungen neutraler Salze ist das Mykoproteïn unlöslich und wird durch Eintragen dieser Salze bis zur Sättigung aus seiner sauren, nicht aber alkalischen Lösung ziemlich vollständig in weissen, amorphen Flocken gefällt. In der Lösung des Mykoproteïns erzeugen Ferrocyankalium, Gerbsäure, Pikrinsäure und Quecksilberchlorid starke Niederschläge. Salpetersäure giebt nur eine schwache Trübung und keine Xanthoproteïnreaction, durch Alkohol wird das Mykoproteïn aus seiner wässrigen Lösung nicht gefällt. Mit Millon'schem Reagens erwärmt wird es roth, und giebt mit Kupfersulfat und Natronlauge die für Eiweisskörper charakteristische, violette Färbung. Das Mykoproteïn ist optisch wirksam und dreht, wie alle Proteïnsubstanzen, das polarisirte Licht nach links ab. Für die Lösung in 0,5 proc. Kalilauge haben wir die specifische Drehkraft $\alpha = -79$ gefunden. Man erhält 40—50 % reines Mykoproteïn von dem Gewichte der angewandten entfetteten Bacterien.

Aus allem Mitgetheilten geht zur Genüge hervor, dass das Mykoproteïn eine eigenthümliche, schon durch ihre elementare Zusammensetzung von allen bisher bekannten verschiedene Eiweisssubstanz ist. Es ist durchaus unwahrscheinlich, dass das Mykoproteïn ein secundäres Zersetzungsproduct eines ursprünglich in der Hefe oder Bacterienzelle ent-

haltenen Eiweisskörpers sein könnte. Säuren oder Alkalien, in der von uns angewandten Concentration und bei so kurzer Dauer der Einwirkung spalten thierische oder pflanzliche Eiweissstoffe nicht und verwandeln sie höchstens in lösliche, peptonartige Modificationen, von welchen es aber bekannt ist, dass sie noch die gleiche elementare Zusammensetzung haben, wie der ursprüngliche Eiweisskörper. Auch das Mykoproteïn wird durch Einwirkung der Säure in Pepton umgewandelt. Wird die saure Lösung, aus welcher das Mykoproteïn durch Eintragen von Steinsalz abgeschieden worden, neutralisirt und auf dem Wasserbade eingedampft, so hinterbleibt ein Rückstand, aus Kochsalz und einer bräunlichen syrupartigen Materie bestehend, welche letztere alle Eigenschaften der Peptone hat und namentlich die charakteristische rothe Färbung mit Kupfersulfat und Aetzkali giebt. Ob das Mykoproteïn aus Hefe und das aus Bacterien absolut identische Körper sind, worauf die gleiche elementare Zusammensetzung und das gleiche Verhalten gegen Reagentien hindeutet, wollen wir vorläufig unentschieden lassen. Zur Beantwortung dieser Frage wird es nothwendig sein, die Spaltungsproducte der Mykoproteïne verschiedenen Ursprungs qualitativ und quantitativ zu bestimmen. Man wird dadurch auch Aufklärung erlangen, zu welcher Gruppe der bis jetzt bekannten Eiweissmaterien das Mykoproteïn zu zählen ist. Es ist möglich, dass diejenige Eiweissmaterie, welche durch den Lebensprocess der einfachsten einzelligen Organismen entsteht, auch relativ die einfachste moleculare Structur hat. Wir möchten an dieser Stelle noch besonders den schönen physiologischen Versuch hervorheben, durch welchen die Bildung der complexesten organischen Verbindung, nämlich des Eiweisses im Organismus der Bacterien, dieser kleinsten, nur mit unseren stärksten Vergrösserungen eben sichtbaren einzelligen Wesen, demonstrirt wird. In der oben erwähnten Nährlösung von schleimsaurem Ammoniak, also aus einer verhältnissmässig sehr einfachen organischen Verbindung von bekannter molecularer Structur bewirkt eine winzige Aussaat von Bacterien, indem sie sich selber vermehren, die Synthese des Eiweisses in so kurzer Zeit, dass

z. B. in einem Versuche innerhalb 4 Wochen 250 Grm. schleimsauren Ammoniaks vollständig verbraucht wurden. Es wird hierbei der grösste Theil der Schleimsäure zu Kohlensäure neben geringen Mengen Buttersäure verbrannt. In sehr kleinen Quantitäten entsteht daneben auch Pyrrol. Etwa 5 % aber sind zur Leibessubstanz der Bacterien geworden, die vorwiegend, wie schon die Elementaranalyse zeigt, aus Mykoproteïn besteht. Die im schleimsauren Ammoniak entstandenen Bacterien wurden durch Erhitzen mit Säure gefällt und nach der Extraction mit Alkohol und Aether analysirt. Die Verbrennungen ergaben für ihre elementare Zusammensetzung folgende Zahlen: C 52,70 %, H 7,61 % und 13,55 % N aschefrei berechnet, was nur wenig von der Zusammensetzung des Mykoproteïns abweicht. Wollte man aus dem gefundenen Stickstoff den Procentgehalt der Bacterien an Mykoproteïn berechnen, so würde das Mykoproteïn etwa 90 % von dem Gewichte der entfetteten und aschefreien Bacterien betragen.

Es ist bis jetzt üblich gewesen, aus dem gefundenen Stickstoff den Gehalt der Hefe an Eiweiss zu berechnen unter der Voraussetzung, dass das Hefeneiweiss 16 % Stickstoff enthalte. Nachdem wir gezeigt haben, dass das Mykoproteïn einen constanten und nicht unbeträchtlichen Bestandtheil der Hefezellen ausmacht und nur 14,7 % enthält, ist diese Voraussetzung nicht mehr zulässig und der Eiweissgehalt der Hefe bisher zu niedrig angenommen worden.

Wir haben oben erwähnt, dass nach mehrstündiger Digestion der entfetteten Bacterien mit 0,5 % Kalilauge nur noch ein geringer, in Kali unlöslicher Rückstand hinterbleibt. Um die Menge desselben zu bestimmen, wurden in einem Versuche 3,096 Grm. mit Alkohol und Aether extrahirter trockner Bacterien mit dem 50fachen Gewicht 0,5 % Kalilauge 6 Stunden lang auf warmem Wasserbade digerirt. Hierauf wurde von dem in Kali unlöslichen Rückstande abfiltrirt. Mikroskopisch untersucht hat dieser Rückstand nicht mehr die Form unversehrter, ursprünglicher Bacterien. Er bestand aus äusserst zarten, das Licht schwach brechenden Gebilden, welche allerdings die Umrisse der ursprünglichen

Bacterien noch hatten, aber verzehrt, aufgequollen und wie zerrissen. Auf Tafel II, Fig. 2 haben wir das mikroskopische Bild wiederzugeben versucht. Nachdem die Lauge abgelaufen war, haben wir den Rückstand zunächst auf Fliesspapier getrocknet, sodann wurde er, in der Absicht, ihn weiter zu reinigen, in Wasser vertheilt. Wir fanden aber, dass die Substanz in Wasser aufquoll und sich in eine schleimige Masse, ähnlich dem Bacterienschleim, verwandelte, so dass sie gar nicht zu filtriren war. Sie wurde deshalb vom Filter heruntergespritzt und mit einigen Tropfen concentrirter Essigsäure angesäuert. Dadurch schrumpfte sie, setzte sich in Flocken zu Boden und liess sich mit schwach essigsaurem Wasser gut auswaschen. Auf gewogenes Filter gebracht und bis zu constantem Gewichte getrocknet, wog die Substanz 0,1455 Grm. oder 4,7 % von dem Gewichte der angewandten Bacterien. Die trockne Substanz war nicht ganz aschefrei. Auf Platinblech verbrannte sie mit dem Geruche nach verbranntem Horn; sie war also stickstoffhaltig. Den Hauptrest haben wir mit 10 Ccm. 10 proc. SO_4H_2 8 Stunden lang auf dem Sandbade gekocht, wodurch etwa die Hälfte aufgelöst wurde. Die filtrirte Lösung mit Natronlauge übersättigt, mit wenig Kupfersulfat versetzt und gekocht, gab eine geringe, aber nicht zu verkennende Abscheidung von rothem Kupferoxydul.

Es ist nicht zu bezweifeln, dass die in verdünntem Kali unlösliche Materie die Zellmembran der Bacterien bildet In Uebereinstimmung mit den letzten Untersuchungen Schützenberger's und Destrem's[1]) finden wir, dass ähnlich, wie die genannten Autoren für die Hefezellen angeben, auch die Zellmembran der Fäulnissbacterien stickstoffhaltig ist. Durch längere Behandlung der Hefezellen mit Kali erhielten Schützenberger und Destrem einen darin unlöslichen Rückstand, dessen Zusammensetzung sie durch die Formel $C_9H_{16}O_5$ oder ein Multiplum davon ausdrücken. Es ist möglich, dass durch Anwendung von concentrirtem Alkali und längeres Erhitzen auch unsere Substanz stick-

[1]) Compt. rend. 88, 384.

stofffrei zu erhalten wäre. Die sehr geringe Menge des in Kali unlöslichen Rückstandes hat uns bis jetzt verhindert, zu erforschen, ob das gleiche Verhältniss auch bei den Bacterien stattfindet. Wir können jedoch auf Grund unserer bisherigen Beobachtungen behaupten, dass, ähnlich wie bei der Hefe, auch bei den Fäulnissbacterien die Zellmembran bildenden Schichten nicht ausschliesslich aus einem celluloseartigen Körper bestehen. Die stickstoffhaltige eiweissartige Materie bildet ebenfalls einen constanten Bestandtheil der Bacterienmembran. — Unsere Beobachtung, dass die Zellmembran bildende Substanz dasselbe Schrumpfungs- und Quellungsvermögen, wie die unverzehrten Bacterien hat, könnte als weiterer Beweis für die Ansicht angesehen werden, dass der Bacterienschleim — die Zoogloeamasse — nichts anderes als aufgequollene Zellmembran ist.

Es wirft sich nunmehr die Frage auf, als was die Zoogloeamasse der Bacterien zu betrachten ist?

Unter Zugrundelegung des Stickstoffgehaltes im Bacterieneiweiss = 14,75 % und der nicht weit von der Wahrheit liegenden Annahme, dass aller Stickstoff der Bacterien in Form von Eiweiss enthalten ist, ergiebt sich aus den oben mitgetheilten Analysen für die Trockensubstanz der unter den gleichen Bedingungen gezüchteten Bacterien in ihren verschiedenen Entwicklungsstadien folgende procentische Zusammensetzung:

	I. Zoogloeamasse.	II. Zoogloeamasse und Bacterien.	III. Reife Bacterien.
Eiweiss	85,76 %	87,46 %	84,20 %
Fett	7,89 „	6,41 „	6,04 „
Asche	4,20 „	3,04 „	4,72 „
Nicht bestimmter Rest	2,15 „	3,09 „	5,04 „

Wenn überhaupt aus diesen so nahe liegenden Zahlen eine Differenz hervortritt, so betrifft sie in erster Linie den nicht bestimmten Rest, welcher in der Zoogloeamasse nur 2 %, in den reifen Bacterien aber 5 % ausmacht. In diesem unbestimmten Rest ist wohl hauptsächlich die celluloseartige, durch Kochen mit Schwefelsäure in Zucker übergehende Substanz inbegriffen. Es geht hieraus hervor, dass nicht die

Zoogloeamasse, sondern die reifen, beweglichen Stäbchen die grösste Menge der celluloseartigen, Zellmembran bildenden Substanz enthalten. Die fett- und aschefreie Zoogloeamasse mit durchschnittlich 14,47 % Stickstoff würde fast ausschliesslich aus Mykoproteïn bestehen.

Mit diesen chemischen Schlussfolgerungen steht auch die Beobachtung eines ausgezeichneten Mikroskopikers im Einklang. — Nach den Untersuchungen R. Koch's[1]) über die Entwicklung des Bacillus Anthracis geschieht der Uebergang der Sporen in die Bacillen auf die Weise, dass zunächst jede Spore in eine kuglige glashelle Masse eingebettet erscheint, welche wie ein heller schmaler, die Sporen umgebender Ring aussieht, deren kugelige Form aber beim Rollen der Sporen nach verschiedenen Richtungen leicht zu erkennen ist. Diese Masse verliert zuerst ihre Kugelgestalt, sie verlängert sich in der Richtung der Längsaxe der ovalen Spore nach der einen Seite hin und wird lang gezogen eiförmig. Die Spore bleibt dabei in dem einen Pol des kleinen walzenförmigen Körpers liegen. Sehr bald wird die glashelle Hülle länger und fadenförmig, und zu gleicher Zeit fängt die Spore an, ihren starken Glanz zu verlieren, sie wird schnell blass und kleiner, zerfällt wohl auch in mehrere Partieen, bis sie schliesslich ganz verschwunden ist (siehe auch die a. a. O. gegebenen Abbildungen).

Diese dünne Protoplasmaschicht, welche jede Spore einhüllt, ist demnach nach Koch die „eigentliche entwicklungsfähige Zellsubstanz". Was bei den einzelnen Sporen des Bacillus Anthracis die glashelle Protoplasmaschicht ist, das ist nach unserer Ansicht bei den Bacterien die Zoogloeamasse, in welcher ebenfalls die Sporen (Körnchen) eingebettet liegen, und die sich später zu Stäbchen entwickeln. Wie unsere Analysen ergeben, ist die Zoogloeamasse kein Kohlehydrat, keine Celluloseart, sondern sie besteht fast nur aus einer eigenthümlichen Eiweisssubstanz, aus der auch die Leibessubstanz der entwickelten Bacterien besteht.

---

[1]) Dr. Koch, Untersuchungen über Bacterien in Cohn's Beiträgen zur Biologie der Pflanzen. I. Band, S. 289.

Aus der chemischen Zusammensetzung der Zoogloeahaut ergiebt es sich, dass sie gänzlich verschieden ist von dem Spross- und Spaltpilzschleim, wie ihn v. Nägeli beschrieben und Loew[1]) analysirt hat. Derselbe fand für den stickstofffreien Hefeschleim 41,43 % C und 6,60 % H, woraus er die Formel $C_{18}H_{34}O_7$ ableitet. Die Essigmutter, welche aus einer zähen Gallerte mit eingebetteten kurzen Stäbchen besteht, enthält nach den Analysen von Loew[2]) 98,3 % Wasser und 1,7 % Trockensubstanz, und in der letzteren 3,37 % Asche und nur 1,82 % Stickstoff, woraus v. Nägeli für die Essigmutterzellen etwa 12,6 % aschefreien Zelleninhalt, 84 % aschefreie Cellulose (Pilzschleim) und 3,4 % Asche berechnet. Die Cellulose bildet die dicken schleimigen Membranen, welche zu dem Gallertkuchen verschmolzen sind (v. Nägeli l. c.).

Man kann die Zoogloeaform der Fäulnissbacterien einerseits und die Gallerte der Essigmutter andererseits als die zwei extremen Repräsentanten der beiden Materien, welche die schleimige Beschaffenheit der Spaltpilze bedingen, ansehen; nämlich der eiweissartigen Zellsubstanz und der Cellulose, welche die schleimige Zellmembran bildet. — Aus der elementaren Zusammensetzung und namentlich aus dem Stickstoffgehalte dieser schleimigen Massen dürfte man in jedem besonderen Falle annähernd beurtheilen können, aus wie viel bildungsfähigem Protoplasma oder aus wie viel aufgequollenem Pilzschleim sie bestehen.

---

[1]) Journ. f. prakt. Chem. [2] **17**, 421.

[2]) C. v. Nägeli, Theorie der Gährung. München 1879.

Die empirische Formel des Skatols;

von

M. Nencki.

Als die specifischen Producte der Eiweissfäulniss, namentlich den Verdauungsproducten gegenüber, habe ich in meinen früheren Publicationen die flüchtigen Fettsäuren von Essigsäure ab bis zur Capronsäure inclusive Wasserstoff, Grubengas und die beiden aromatischen Substanzen: das Indol und Skatol bezeichnet. Die Herren Baumann und Salkowski, welche meine Untersuchungen über die Fäulniss weiter fortsetzten, haben die Zahl der aromatischen Producte noch wesentlich vermehrt, indem sie das Phenol, Kresol, die Phenylpropionsäure, Phenylessigsäure und die Paraoxyphenylessigsäure aus gefaulten Eiweisslösungen isolirten. Dazu kommt noch die kürzlich von Baumann[1]) durch Fäulniss des Tyrosins erhlatene Hydroparacumarsäure.

Als ein der Eiweissfäulniss eigenthümliches Product habe ich das Skatol schon vor mehreren Jahren erkannt, ohne es jedoch in für Analysen hinreichenden Mengen erhalten zu haben. Es war dies gelegentlich der Arbeit des Hrn. Secretan „über die angebliche Umwandlung von Eiweiss zu Fett bei längerem Verbleiben unter Wasser oder in der Erde“ — die sogenannte Leichenfettbildung. — Wir erhielten damals zum ersten Male Skatol und konnten es als eine dem Indol sehr ähnliche, aber durch seine charakteristischen Eigenschaften doch davon verschiedene Substanz bezeichnen. — Ich erhielt es später neben Indol durch Schmelzen von Eiweiss mit Kalihydrat, jedoch so wenig davon, dass ich die Hoffnung, es in für Analysen hinreichender Menge zu erhalten, aufgeben musste.

In grösseren Mengen hat Brieger[2]) das Skatol als Product der Dickdarmfäulniss aus menschlichen Excrementen

---

[1]) Ber. Berl. chem. Ges. **12,** 1450.

[2]) Das. **10,** 1027, und Journ. f. prakt. Chem. [2] **17,** 124.

erhalten und analysirt. Aus den wässrigen Destillaten der Excremente werden aber, ausser Skatol, noch andere aromatische Substanzen durch Aether aufgenommen, so das Indol, Phenol und namentlich eine gelbe, ölige Materie, von welcher das Skatol nur schwer und mit vielem Verlust zu trennen ist. Die Elementaranalysen ergaben auch keine, für eine bestimmte Formel scharf stimmenden Zahlen, weshalb die Frage nach der Zusammensetzung des Skatols noch offen gelassen wurde.

Da die Versuche des Dr. Brieger, durch Variationen der Fäulnissbedingungen Skatol in kürzerer Zeit und in grösserer Quantität zu gewinnen, erfolglos blieben, so habe ich zu dem Zwecke den ersten Versuch, wo Skatol nach mehrmonatlicher Fäulniss bei niedrigerer Temperatur erhalten wurde, in grösserem Maassstabe wiederholt.

Es wurden 2330 Grm. frisches Pankreas und 500 Grm. Muskelfleisch, von Fett befreit und klein zerhackt, mit 8 Liter Brunnenwasser übergossen, 5 Monate lang in einem lose zugedeckten Topfe bei Zimmertemperatur der Fäulniss überlassen. In diesem Zeitraume schwankte dieselbe zwischen 3,5° im Minimum und 27,5° im Maximum. Nach einer so langen Fäulniss bei gewöhnlicher Temperatur enthielt die Flüssigkeit kein Indol, sondern nur Skatol.

Nach Verlauf der oben angegebenen Zeit wurde die faulende Lösung mit Essigsäure angesäuert und destillirt; es geht hierbei mit den Wasserdämpfen das Skatol in die Vorlage über und wird zweckmässig aus dem Destillate nach dem Ansäuern mit Salzsäure mittelst Pikrinsäure ausgefällt. Durch Destillation der abfiltrirten, in schönen rothen Nadeln krystallisirenden Pikrinsäureverbindung des Skatols mit wässrigem Ammoniak und Umkrystallisiren aus heissem Wasser der mit Wasserdämpfen übergehenden Substanz, wird das Skatol völlig rein erhalten. Es schmolz bei 95° und zeigte sich in allen sonstigen Eigenschaften als mit dem von Brieger aus menschlichen Excrementen erhaltenen, identisch. Von Indol war in den Destillaten keine Spur nachweisbar. Nach so langer Dauer der Fäulniss bei gewöhnlicher Temperatur enthielt die Flüssigkeit hauptsächlich Ammoniak, an

Kohlensäure und flüchtige Fettsäuren gebunden. Auf die Gesammtmenge der Flüssigkeit = 8500 Ccm. berechnet, erhielt ich 48,47 Grm. Ammoniak. Ebenfalls auf die Gesammtmenge der Flüssigkeit berechnet, wurden 0,285 Grm. Phenol erhalten; ausserdem eine syrupöse, in Aether lösliche, in Wasser unlösliche und darin untersinkende Säure, welche mit Zinkoxydhydrat gekocht, ein stickstofffreies, in Wasser lösliches und in undeutlichen Blättchen krystallisirendes Zinksalz lieferte. Andere krystalloide Producte, ausser unorganischen Salzen, wurden nicht erhalten: kein Tyrosin und kein Leucin. Der charakteristische Skatolgeruch wurde erst im vierten Monat der Fäulniss bemerkbar.

Ueber diesen Versuch habe ich im medicinischen Centralblatt (Jahrgang 1878, No. 47) eine kurze Mittheilung gemacht. Im verflossenen Sommer habe ich nach gleicher Methode wieder Skatol bereitet, und durch Analysen des freien Skatols, sowie der Pikrinsäureverbindung glaube ich dessen Zusammensetzung endgültig festgestellt zu haben.

0,1588 Grm. des einmal aus heissem Wasser umkrystallisirten und im Exsiccator getrockneten Skatols gaben 0,4804 Grm. CO_2 und 0,1027 Grm. H_2O oder 82,50 % C und 7,18 % H. — 0,1056 Grm. des gleichen Präparates gaben 0,3187 Grm. CO_2 und 0,0686 Grm. H_2O oder 82,31 % C und 7,22 % H.

Aus diesen Zahlen lässt sich mit guter Uebereinstimmung die Formel C_9H_9N berechnen, mit welcher auch die früheren für Stickstoff erhaltenen Zahlen (10 — 11,5 %) am besten übereinstimmen.

	Versuch.		Theorie.	
C	82,50 % und	82,31 %	C_9	82,44 %
H	7,18 „ „	7,22 „	H_9	6,89 „
			N	10,67 „

Um jedoch die Formel C_9H_9N zu controliren, wurde reines Skatol in heissem Wasser gelöst und mit ebenfalls heisser wässriger Pikrinsäurelösung im Ueberschusse versetzt. Beim Erkalten krystallisirte das pikrinsaure Skatol in schönen rothen Nadeln aus, welches, über SO_4H_2 getrocknet und mit CuO verbrannt, folgende Zahlen ergab:

0,292 Grm. der Substanz lieferten 0,5348 Grm. CO_2 und 0,0981 Grm. H_2O oder 49,95 % C und 3,73 % H.

Diese Zahlen stimmen gut mit der Formel:

$$C_9 H_9 N . C_6 H_2 (NO_2)_3 OH$$

überein, welche 50,00 % C und 3,33 % H verlangt.

Aehnlich wie das von Baeyer[1]) kürzlich analysirte pikrinsaure Indol ist auch das pikrinsaure Skatol aus einem Molekül Pikrinsäure und einem Molekül Skatol zusammengesetzt. Der empirischen Zusammensetzung nach könnte man das Skatol als Methylindol auffassen, und der Umstand, dass bei der Eiweissfäulniss neben Phenol auch Ortho- und Parakresol[2]) entstehen, deutet die Homologie an. Selbstverständlich kann erst die Untersuchung der Zersetzungsproducte des Skatols uns Aufklärung über die moleculare Structur dieses interessanten Körpers verschaffen.

Bern, im October 1879.

---

[1]) Ber. Berl. chem. Ges. **12**, 1314.

[2]) Baumann und Brieger in der Zeitschrift für physiol. Chem. **3**, 149.

Erklärung der Tafel I.

Fig. I. Mikroorganismen entstanden in luftleeren zugeschmolzenen Kölbchen in 1 % Leimlösung, mit einem Tropfen Pankreassaft versetzt, nach 20tägiger Fäulniss bei 40°. Es sind hier vorwiegend einzelne Coccos von 0,5—0,8 Mikrometer im Durchmesser zu sehen. (*a*) Köpfchenbacterien. (*b*) eine Coccoscolonie. Die Coccos liegen in einer schleimigen Masse und die Colonie schwimmt als Ganzes mit dem Flüssigkeitsstrome.

Fig. II. Mikroorganismen, entstanden bei Sauerstoffausschluss nach achttägiger Fäulniss bei 40° des pankreatischen Saftes. (*a*) Coccos 0,5—1 Mikrometer im Durchmesser. (*b*) Torulaform derselben. (*c*) Mikrobacterien 3—5 Mikrometer im Durchmesser. (*d*) Köpfchenform derselben. (*f*) grosse Coccos von 3—5 Mikrometer im Durchmesser, mit stielartigen Fortsätzen. (*e*) Hantelform derselben.

Fig. III. Eiter aus dem Abscess der an Nierentuberculose leidenden Frau. (*a*) Eiterkörperchen, mit Coccen bedeckt. (*b*) Eiterkörperchen, in eine formlose Masse verwandelt und mit Coccen bedeckt. (*c*) vereinzelte Coccen von 0,5—1,0 Mikrometer im Durchmesser. (*d*) eine Coccoscolonie. (*f*) Bacterien von 3 bis 8 Mikrometer Länge.

Fig. IV. Eiter des an eitriger Pleuritis verstorbenen Mannes. Die Eiterkörperchen sind wie in Fig. III, mit gleichen Coccosformen bedeckt. (*a*) Diplococcos. (*b*) Tetracoccos.

Erklärung der Tafel II.

Fig. Ia. Mikrococcen in Hefeabkochung entstanden.

Fig. Ib. Dieselben Mikrococcen durch Erhitzen mit Salzsäure flockig abgeschieden.

Fig. II. Der in 0,5 % Kalilauge unlösliche Rückstand der Bacterien aus Zellmembran bestehend.

Die Bilder sind nach einer tausendfachen Vergrösserung (Seitz'sches Ocular III, Objectiv IX, Immersionssystem) gezeichnet.

WELLCOME LIBRARY

Fig.1.

Fig.2.

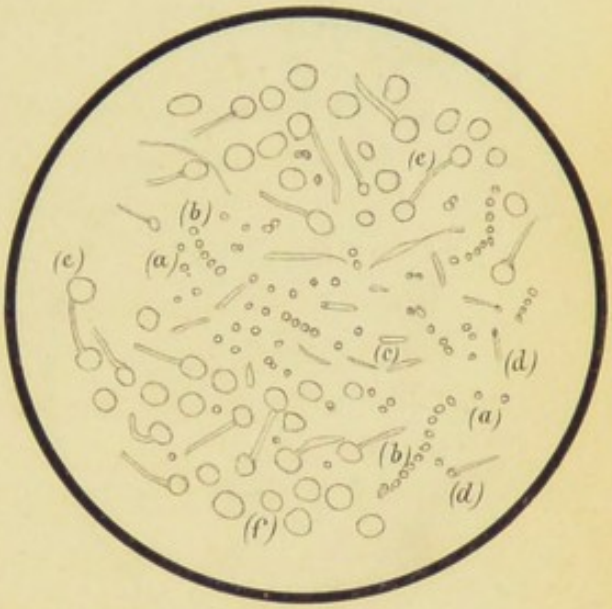
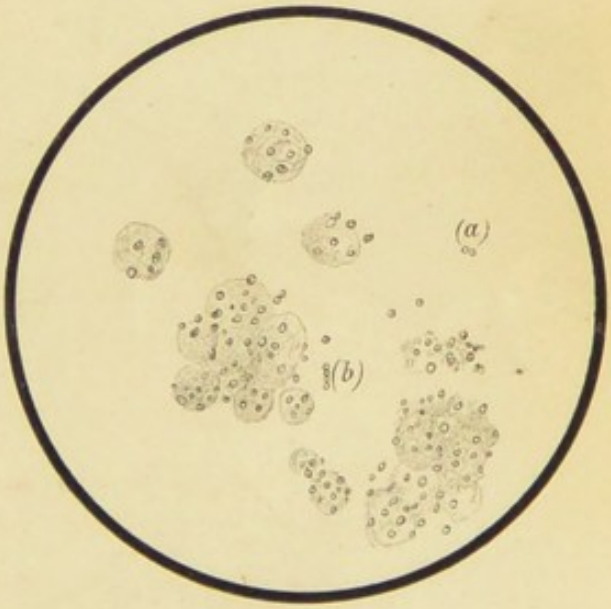


Fig.3.

Fig.4.



Lith. v. Fischbach & Schäffer, Leipzig.

Fig. 1a

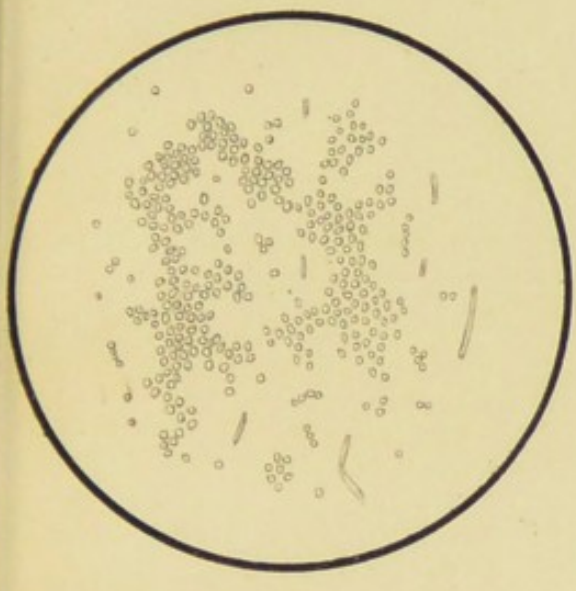


Fig. 1b

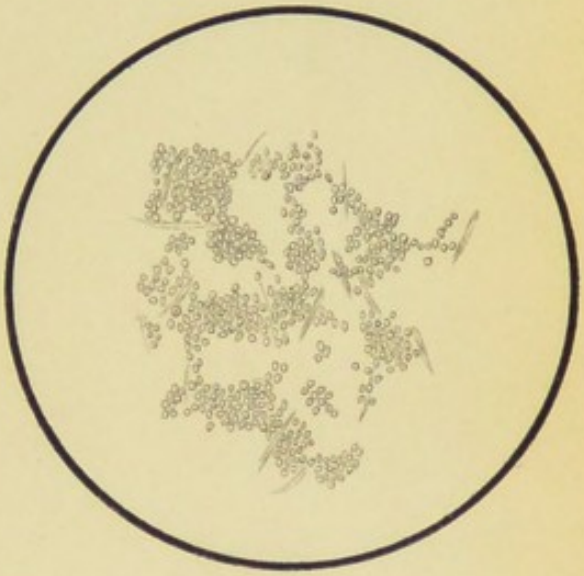
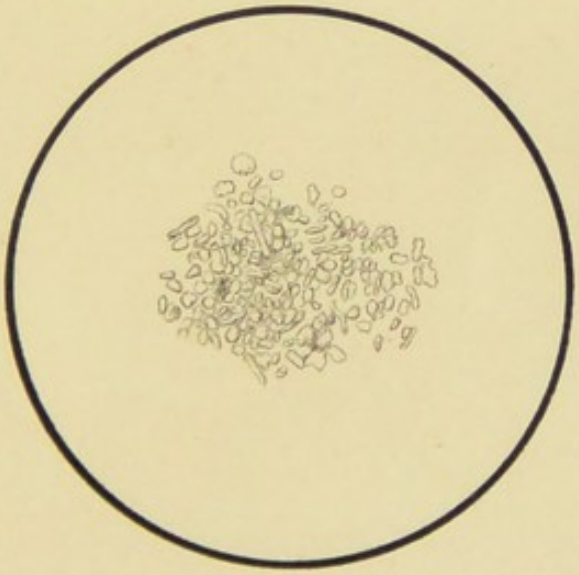


Fig. 2.



Lith v Eschebach & Schäfer, Leipzig