Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 25 (1934)

Heft: 4-5

Artikel: Neue bakteriologische Nährsubstrate

Autor: Acklin, O. / Vuillemin, R.G.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-983265

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 03.02.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Neue bakteriologische Nährsubstrate.

Von Dr. O. ACKLIN und Dr. R. G. VUILLEMIN.
(Aus dem Hygiene-Institut der Eidg. Techn. Hochschule Zürich.)

Die Vorgänge, die sich in einem beimpften Nährsubstrat abspielen, sind von den direkt assimilierbar zur Verfügung stehenden Substratbestandteilen abhängig. Die Voraussetzung dafür, dass ein Substrat einer Bakterienart als Nährstoffquelle dienen kann, liegt also darin, dass das betreffende Bakterium dieses Substrat in assimilierbare Form überführen kann. Dies geschieht im Prinzip durch die von diesen Bakterien abgesonderten Fermenten und die dabei sich abspielenden Vorgänge sind hauptsächlich Hydrolysen. Die hydrolytischen Vorgänge, welche zwecks Nutzbarmachung eines Nährsubstrates durch die Bakterien stattfinden müssen, liefern somit entsprechende Hydrolysate, welche direkt oder nach weiterer Aufspaltung die unmittelbar assimilationsfähigen und lebenswichtigen Bestandteile des Nährsubstrates darstellen. Es lag daher aus verschiedenen Gründen nahe, die gebräuchlichsten bakteriologischen Nährsubstrate vergleichsweise mit Nährsubstraten zu prüfen, welche Zusätze in Form charakteristischer Hydrolysate erhalten haben.

Im weitern wurde versucht, diese Hydrolysate durch Kohlehydrate wie Glukose und Stärke zu ersetzen bzw. in ihrer Wirkung zu steigern.

Die Herstellung der Nährsubstrate.

Bei den ausgeführten Versuchen wurden flüssige und feste Nährsubstrate verwendet, wobei sich letztere meist nur durch den Agar-Gehalt von den flüssigen unterschieden. Als Grundtypus, dem die betreffenden Zusätze gemacht wurden, dienten folgende Nährsubstrate:

Flüssige Nährlösung: (= Bouillon)	Liebigs Fleischextrakt . . .	1 %
	Pepton	1 %
	Kochsalz	½ %
Festes Nährsubstrat: (= Agar	*) Agar-Agar	1½ %
	Liebigs Fleischextrakt . . .	1 %
	Pepton	1 %
	Kochsalz	½ %

Diese Ingredienzien wurden mit der entsprechenden Menge frischen, destillierten Wassers in einen Kolben gebracht, mit Natronlauge leicht alkalisiert und während 15 Minuten bei 104° in den Autoklav gestellt. Dann wurde im Hellige-Apparat der pH-Wert 7,2—7,3 eingestellt (2n-HCl); ein Puffergemisch-Zusatz von Na_2HPO_4/KH_2PO_4 (pH = 7,2) zugegeben und schliesslich das Ganze nochmals während 20 Minuten im Autoklav bei 106° aufgekocht. Hierauf wurde das fertige Nährsubstrat vorerst durch Watte, dann durch Spezial-Papierfilter filtriert. — Dort wo es auf äusserste Klarheit des Nährsubstrates ankam, wurde am Schluss der Herstellung durch das Seitzfilter (Klärschicht) filtriert. Man erhielt dadurch äusserst klare und noch bedeutend hellere Nährsubstrate.

Die Hydrolysatzusätze erfolgten vor dem Einstellen des pH-Wertes und der letzten Gesamt-Sterilisation; die flüssigen Bestandteile werden direkt zugesetzt, die festen in wässri-

*) Für einige Versuche wurde an Stelle von Agar auch Gelatine verwendet.

ger Lösung. Bei Verwendung von stärkehaltigen Agar-Nährsubstraten wurde die Stärke von Anfang an gleichzeitig mit der Natronlauge zugegeben und gedämpft. Dann erfolgten die weitern Zusätze, Filtration und endgültige Einstellung der Reaktion mit Salz- oder Milchsäure.

Bei allen Versuchen wurden die reinen Handelsprodukte verwendet (Pepton = Peptonum siccum sine sale „Siegfried"; Stärke = Stärke wasserlöslich n. Zulkowsky (Merck pro anal.).

Die zugesetzten Hydrolysate.

Was die verwendeten Hydrolysate anbetrifft, so ist in erster Linie das *Eatan*, das im Handel erhältliche diätetisch-pharmazeutische Präparat, zu nennen. Es war Hr. Dr. E. Huggenberg, prakt. Arzt, der uns auf das Eatan aufmerksam gemacht hat; wir sind ihm hierfür zu grossem Dank verpflichtet. Die Analyse des Eatans, die uns von der Eatinon-Gesellschaft, München, bzw. deren Generalvertretung in der Schweiz, Mathys & Schaaff, Zürich, zur Verfügung gestellt wurde, lautet:

Spezifisches Gewicht	1,2625
Wasser	53,56 %
Trockensubstanz	46,44 %
Mineralstoffe (Asche)	19,45 %
darin Chlor (titrimetrisch)	11,14 %
berechnet als Kochsalz	18,36 %
Chlor in der Ursubstanz (titrimetrisch)	12,1 %
Differenz der beiden Chlorwerte, berechn. als Ammonchlorid	1,45 %
chloridfreie Asche	1,09 %
Gesamtstickstoff	3,71 %
davon als Aminosäurestickstoff	2,40 %
davon als Ammoniakstickstoff	0,325 %
Kreatininstickstoff	0,149 %
Xanthinstickstoff	0,075 %
Stickstoff unbekannter Bindung	0,761 %
Stickstoffsubstanz, berechnet	23,19 %
Total Kreatinin	0,401 %
Präformiertes Kreatinin	0,337 %
Gesamtsäure in cm³ $\frac{n}{1}$-Lösung (gegen Phenolphtalein titriert)	21,25
dieselbe berechnet als Milchsäure	1,91 %
Flüchtige Säure in cm³ $\frac{n}{10}$-Lösung (gegen Phenolphtalein titriert)	2,16
Prüfung auf Hefebestandteile	negativ
Reduzierende Substanzen	keine

Von schädlichen oder drastisch wirkenden Stoffen irgend welcher Art wurde das Eatan frei befunden.

Eatan III ist eingedicktes Eatan, das aus 400 cm³ Eatan (Original) bei einem Kochsalzgehalt von 22% unter 45° im Vakuum auf 120 cm³ eingeengt wurde, wobei sich Kochsalz ausschied, sodass Eatan III nur noch einen Kochsalzgehalt von 14,6% aufweist.

Weiterhin wurden im Hygiene-Institut *Hydrolysate* von gereinigtem *Casein* (Hammarsten), *Gelatine* (Marke Silberdruck) und gewaschenen *Menschenhaaren* mittels Salzsäure hergestellt*).

*) Wir verdanken die Produkte und deren Stickstoffgehaltbestimmung Herrn *H. F. Kuisel* am Hygiene-Institut.

Endlich verwenden wir ein *Hydrolysat des Zürichseeplanktons.* Die Hydrolyse des *Planktons* und die Zubereitung der daraus hergestellten Nährsubstrate gestaltete sich nach *Vorschrift von Acklin* folgendermassen:

Ausgegangen wurde von einem Material, das jeweils von der Wasserversorgung der Stadt Zürich (Herr Assistent Schaltegger) zur Verfügung gestellt wurde in 4 Flaschen à 2 Liter. Aussehen: trüb, rötlichbraun, in frischem Zustand leicht aromatisch, meist $^1/_5$ davon abgesetzt, die überstehende Flüssigkeit rötlichbraun. — Das Ganze wurde durch gewöhnliche sterile Gaze abfiltriert und schliesslich ausgepresst. Der Rückstand wog 656,0 g und war noch breiig, der Trockenrückstand wurde durch Trocknen von zwei Proben auf der Uhrschale an der Luft zu 17,4% bestimmt; daraus berechnet sich eine Gesamtmenge an luftgetrocknetem Rückstand von 114 g.

Der ganze Rückstand von ca. 600 cm³ (= 114 g lufttrocken) wurde in eine Kochflasche gebracht, mit 8 cm³ 25%iger HCl versetzt und im Autoklav bei ca. 102° während 12 Minuten der sauren Hydrolyse unterworfen. Nachher wurde durch Gaze abfiltriert: das rötlichorange, helle Filtrat hatten einen pH von 5,8 und betrug 370 cm³. Der Rückstand wurde mit 5 g $NaHCO_3$ und 500 cm³ Wasser versetzt und im kochenden Wasserbad am Rückflusskühler während 6—7 Stunden hydrolysiert. (Die 5 g $NaHCO_3$ berechneten sich als äquivalente Menge zu den 8 cm³ HCl 25%iger der sauren Hydrolyse.) Nach dieser alkalischen Hydrolyse wurde schliesslich ein dunkelbraunes, wenig durchsichtiges Filtrat von 410 cm³, pH = 8,2 gewonnen.

Beide Filtrate wurden nach den Hydrolysen vereinigt (= 780 cm³), mit Wasser zu 1000 cm³ ergänzt, pH = 7,2 eingestellt (Zugabe von 0,3 cm³ HCl 25%ig) und im Seitzfilter geklärt.

Durch Zugabe von 20 g Agar wurde ein Nährsubstrat analog den bereits beschriebenen gewonnen.

Die gemachten Angaben stellten Mittelwerte aus drei verschiedenen Planktonfassungen dar (März 1932, Juni 1932, Februar 1933). Es ist zu beachten, dass das Material weitgehend durch die Vegetation der betreffenden Jahreszeit bestimmt wird.

Für die Stickstoffgehalte und spezifischen Gewichte der verwendeten Hydrolysate wurden folgende Zahlen erhalten:

	Stickstoffgehalt bezogen auf Volumen	Spez. Gewicht
Eatan (Original)	3,78 %	1,262
Eatan III	8,02 %	1,333
L. (aus Casein Hammarsten) . .	5,46 %	1,251
G. (aus Gelatine «Silberdruck» .	11,62 %	1,338
C. (aus Menschenhaaren) . . .	9,52 %	1,202
See-Plankton-Hydrolysat . . .	0,0375 %	1,143
Agar-Agar	0,172 %	—

Die Beimpfung der Nährsubstrate.

Zur Beimpfung der Nährsubstrate wurden als Vertreter der aeroben, fakultativ anaeroben und streng anaeroben Bakterien folgende drei Stämme gewählt: Bact. Coli, Bact. fluorescens, Bact. putrificus.

Diese drei Keime züchteten wir als Reinkulturen in gewöhnlicher Bouillon, Bact. putrificus in 2% Eatan-Leber-Bouillon; nach 24-stündiger Bebrütung dieser Kulturen wurde die Bakterienmasse durch Zentrifugieren abgesetzt und in 8 cm³ physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, nachdem sie damit noch einige Male ausgewaschen worden war. Aus dieser Originalaufschwemmung legten wir durch jeweiliges Ueberimpfen von 1 cm³ in 9 cm³ sterile physiologische Kochsalzlösung eine dezimale Verdünnungsreihe an, die dann zur

Beimpfung der zu prüfenden Nährsubstrate verwendet wurde. Aus drei bis vier aufeinanderfolgenden Verdünnungen, die nach einiger Praxis meist zwischen der 3. und 6., bei Bact. putrificus zwischen der 2. und 5. Verdünnung gewählt werden konnte, verimpften wir jeweils 0,5 cm^3 in das eben frisch verflüssigte Nährsubstrat.

Die *Bebrütung der verschiedenen Kulturen* erfolgte für Coli bei 37°, für Fluoreszenz bei 22°; Putrificus wurde in dem *Anaerobenapparat* nach Boez bei 37° gezüchtet.

Die *Auszählung der bebrüteten Gussplatten* erfolgte zum Teil mit der Zählfolie nach Gutfeld; kleinere Kolonienzahlen wurden direkt, reichlichere mit der Lupe ausgezählt.

Um für alle Versuche eine entsprechende Vergleichsmöglichkeit zu haben, wurde ausgehend von der Originalaufschwemmung der Bakterien in physiologischer Kochsalzlösung parallel eine dezimale Verdünnungsreihe in Bouillon mit 2% Eatan angelegt und das Wachstum in diesen Röhrchen an der Trübung konstatiert. Später verwendeten wir allerdings meistens ein festes Vergleichsnährsubstrat (Agar — 2% Eatan) und konnten dadurch die ausgezählten Kolonienzahlen jeweils direkt in Beziehung zu einander bringen. — Auch hier wurde die Bouillonverdünnungsreihe mit Bact. putrificus unter gleichen anaeroben Bedingungen wie oben ausgeführt.

Die Versuche und deren Ergebnisse.

In den folgenden Tabellen geben wir die Versuchsprotokolle wieder, wie solche in der an der Eidgen. Techn. Hochschule 1933 eingereichten und genehmigten Promotionsarbeit von R. G. Vuillemin: «Biochemische Studien zur vergleichenden Bewertung von bakteriologischen Nährsubstraten unter besonderer Berücksichtigung des Oxydations-Reduktions-Potentials», enthalten sind.

1. Agar (gew.)

Bouillonverdünnungen (2% Eatan):
positiv gewachsen bis:

7. dez. Verd. (5×24 Std.) Coli
7. » » (5×24 Std.) Fluoreszens
6. » » (5×24 Std.) Putrificus (anaerob)

Ausgezählte Plattenkeime:	Stunden 2 x 24	3 x 24	5 x 24	8 x 24
Coli:				
3. dez. Verd. . .	50	56	56	55
4. » » . .	6	7	7	7
5. » » . .	—	—	—	—
Fluoreszens:				
3. dez. Verd. . .	100	100	90	95
4. » » . .	12	11	11	12
5. » » . .	—	—	—	—
Putrificus (anaerob):				
2. dez. Verd. . .	25	26	26	26
3. » » . .	3	3	3	3
4. » » . .	—	—	—	—

2. Agar — 0,5% Eatan

Bouillonverdünnungen (2% Eatan):
positiv gewachsen bis:

7. dez. Verd. (5×24 Std.) Coli
7. » » (5×24 Std.) Fluoreszens
6. » » (5×24 Std.) Putrificus (anaerob)

Ausgezählte Plattenkeime:	Stunden 2 x 24	3 x 24	5 x 24	8 x 24
Coli:				
3. dez. Verd. . .	280	280	280	280
4. » » . .	28	29	29	30
5. » » . .	—	1	1	1
Fluoreszens:				
3. dez. Verd. . .	300	350	350	400
4. » » . .	35	42	42	40
5. » » . .	3	3	4	4
Putrificus (anaerob):				
2. dez. Verd. . .	180	190	190	190
3. » » . .	23	24	24	24
4. » » . .	—	2	2	2

3.* Agar — 0,37% Eatan III

4.* Agar — 0,31% L.-Hydrolysat

*) Dieses Zeichen hinter einer Versuchsnummer verweist bezüglich der Versuchsergebnisse auf die entsprechende Nummer in der Promotionsarbeit Vuillemin. Aus Platzgründen musste hier auf die Veröffentlichung verzichtet werden.

5.* Agar — 0,18 % G.-Hydrolysat

7. Agar — 2 % Eatan

Bouillonverdünnungen (2% Eatan):
positiv gewachsen bis:

7. dez. Verd. (5×24 Std.) Coli
7. » » (5×24 Std.) Fluoreszens
6. » » (5×24 Std.) Putrificus (anaerob)

Ausgezählte Plattenkeime:	Stunden 2 x 24	3 x 24	5 x 24	8 x 24
Coli:				
3. dez. Verd. . .	500	600	600	600
4. » » . .	54	55	58	58
5. » » . .	3	4	4	4
Fluoreszens:				
3. dez. Verd. . .	650	670	660	660
4. » » . .	70	70	69	69
5. » » . .	8	8	8	8
Putrificus (anaerob):				
2. dez. Verd. . .	400	400	410	410
3. » » . .	34	34	34	34
4. » » . .	2	2	2	2

6.* Agar — 0,20 % C.-Hydrolysat

8. Agar — 1 % Stärke

Bouillonverdünnungen (2% Eatan):
positiv gewachsen bis:

7. dez. Verd. (5×24 Std.) Coli
7. » » (5×24 Std.) Fluoreszens
6. » » (5×24 Std.) Putrificus (anaerob)

Ausgezählte Plattenkeime:	Stunden 2 x 24	3 x 24	5 x 24	8 x 24
Coli:				
3. dez. Verd. . .	280	280	290	290
4. » » . .	15	18	19	19
5. » » . .	—	2	3	3
Fluoreszens:				
3. dez. Verd. . .	300	330	300	310
4. » » . .	19	19	21	21
5. » » . .	—	3	3	4
Putrificus (anaerob):				
2. dez. Verd. . .	40	42	44	45
3. » » . .	6	7	7	7
4. » » . .	—	—	—	—

9. Agar — 1 % Glucose

Bouillonverdünnungen (2% Eatan):
positiv gewachsen bis:

7. dez. Verd. (5×24 Std.) Coli
7. » » (5×24 Std.) Fluoreszens
6. » » (5×24 Std.) Putrificus (anaerob)

Ausgezählte Plattenkeime:	Stunden 2 x 24	3 x 24	5 x 24	8 x 24
Coli:				
3. dez. Verd. . .	140	170	170	180
4. » » . .	5	7	7	7
5. » » . .	—	—	—	—
Fluoreszens:				
3. dez. Verd. . .	200	250	250	250
4. » » . .	27	30	30	30
5. » » . .	1	1	1	1
Putrificus (anaerob):				
2. dez. Verd. . .	80	85	85	85
3. » » . .	10	10	10	10
4. » » . .	—	—	—	—

12. Agar - 0,5 % Eatan - 1 % Stärke

Bouillonverdünnungen (2% Eatan):
positiv gewachsen bis:

7. dez. Verd. (5×24 Std.) Coli
7. » » (5×24 Std.) Fluoreszens
6. » » (5×24 Std.) Putrificus (anaerob)

Ausgezählte Plattenkeime:	Stunden 2 x 24	3 x 24	5 x 24	8 x 24
Coli:				
3. dez. Verd. . .	550	550	550	550
4. » » . .	50	52	51	52
5. » » . .	7	7	7	7
Fluoreszens:				
3. dez. Verd. . .	600	600	620	620
4. » » . .	65	64	64	64
5. » » . .	3	5	5	5
Putrificus (anaerob):				
2. dez. Verd. . .	280	290	290	290
3. » » . .	40	40	40	40
4. » » . .	4	4	4	4

10.* Agar — 0,8 % C.-Hydrolysat

11.* Agar — 0,1 % C.-Hydrolysat — 1 % Stärke

13. Agar — 0,5 % Eatan — 2 % Stärke

Bouillonverdünnungen (2% Eatan): positiv gewachsen bis:

7. dez. Verd. (5×24 Std.) Coli
7. » » (5×24 Std.) Fluoreszens
6. » » (5×24 Std.) Putrificus (anaerob)

Ausgezählte Plattenkeime:	Stunden 2 x 24	3 x 24	5 x 24	8 x 24
Coli:				
3. dez. Verd. . .	650	700	700	750
4. » » . .	62	66	64	65
5. » » . .	4	6	6	6
Fluoreszens:				
3. dez. Verd. . .	650	750	750	750
4. » » . .	71	71	73	73
5. » » . .	6	6	6	7
Putrificus (anaerob):				
2. dez. Verd. . .	380	390	390	390
3. » » . .	30	30	30	30
4. » » . .	2	2	2	2

14. Agar — 0,5 % Eatan — 1 % Glucose

Bouillonverdünnungen (2% Eatan): positiv gewachsen bis:

7. dez. Verd. (5×24 Std.) Coli
7. » » (5×24 Std.) Fluoreszens
6. » » (5×24 Std.) Putrificus (anaerob)

Ausgezählte Plattenkeime:	Stunden 2 x 24	3 x 24	5 x 24	8 x 24
Coli:				
3. dez. Verd. . .	350	400	400	450
4. » » . .	40	45	46	49
5. » » . .	6	7	5	6
Fluoreszens:				
3. dez. Verd. . .	300	350	350	350
4. » » . .	25	27	28	28
5. » » . .	4	4	4	4
Putrificus (anaerob):				
2. dez. Verd. . .	330	360	370	340
3. » » . .	42	45	45	44
4. » » . .	3	3	3	3

15. Agar — 2 % Eatan — 1 % Stärke

Bouillonverdünnungen (2% Eatan): positiv gewachsen bis:

7. dez. Verd. (5×24 Std.) Coli
7. » » (5×24 Std.) Fluoreszens
6. » » (5×24 Std.) Putrificus (anaerob)

Ausgezählte Plattenkeime:	Stunden 2 x 24	3 x 24	5 x 24	8 x 24
Coli:				
3. dez. Verd. . .	600	600	600	600
4. » » . .	55	58	58	58
5. » » . .	5	5	5	5
Fluoreszens:				
3. dez. Verd. . .	680	680	680	680
4. » » . .	52	58	59	59
5. » » . .	6	7	7	7
Putrificus (anaerob):				
2. dez. Verd. . .	340	350	350	350
3. » » . .	32	32	32	32
4. » » . .	2	3	3	3

16. Agar — 2% Eatan — 2 % Stärke

Bouillonverdünnungen (2% Eatan): positiv gewachsen bis:

7. dez. Verd. (5×24 Std.) Coli
7. » » (5×24 Std.) Fluoreszens
6. » » (5×24 Std.) Putrificus (anaerob)

Ausgezählte Plattenkeime:	Stunden 2 x 24	3 x 24	5 x 24	8 x 24
Coli:				
3. dez. Verd. . .	700	670	680	700
4. » » . .	70	70	69	70
5. » » . .	9	9	9	9
Fluoreszens:				
3. dez. Verd. . .	700	710	740	740
4. » » . .	64	64	65	65
5. » » . .	5	5	5	5
Putrificus (anaerob):				
2. dez. Verd. . .	450	450	450	440
3. » » . .	47	47	47	47
4. » » . .	5	5	5	5

17. Plankton-Hydrolysat I — Agar

Bouillonverdünnungen (2% Eatan):
positiv gewachsen bis:
7. dez. Verd. (5×24 Std.) Coli
7. » » (5×24 Std.) Fluoreszens
6. » » (5×24 Std.) Putrificus (anaerob)

Ausgezählte Plattenkeime:	Stunden 2 x 24	3 x 24	5 x 24	8 x 24
Coli:				
3. dez. Verd. . .	330	360	360	360
4. » » . .	30	31	31	31
5. » » . .	2	2	2	2
Fluoreszens:				
3. dez. Verd. . .	380	380	360	360
4. » » . .	32	33	33	30
5. » » . .	3	4	4	4
Putrificus (anaerob):				
2. dez. Verd. . .	160	160	160	190
3. » » . .	22	22	22	22
4. » » . .	1	1	1	1

18. Plankton-Hydrolysat I (4fach eingedickt) — Agar

Bouillonverdünnungen (2% Eatan):
positiv gewachsen bis:
7. dez. Verd. (5×24 Std.) Coli
7. » » (5×24 Std.) Fluoreszens
6. » » (5×24 Std.) Putrificus (anaerob)

Ausgezählte Plattenkeime:	Stunden 2 x 24	3 x 24	5 x 24	8 x 24
Coli:				
3. dez. Verd. . .	480	530	530	520
4. » » . .	42	43	45	45
5. » » . .	1	4	4	4
Fluoreszens:				
3. dez. Verd. . .	440	460	460	460
4. » » . .	46	48	48	48
5. » » . .	5	5	6	5
Putrificus (anaerob):				
2. dez. Verd. . .	—	—	—	—
3. » » . .	—	—	—	—
4. » » . .	—	—	—	—

19.* Plankton-Hydrolysat II — Agar

20.* Plankton-Hydrolysat III — Agar

21. Plankton-Hydrolysat III — 1% Stärke — Agar

Bouillonverdünnungen (2% Eatan):
positiv gewachsen bis:
7. dez. Verd. (5×24 Std.) Coli
7. » » (5×24 Std.) Fluoreszens
6. » » (5×24 Std.) Putrificus (anaerob)

Ausgezählte Plattenkeime:	Stunden 2 x 24	3 x 24	5 x 24	8 x 24
Coli:				
3. dez. Verd. . .	510	510	510	510
4. » » . .	40	40	40	40
5. » » . .	3	3	3	3
Fluoreszens:				
3. dez. Verd. . .	460	460	480	470
4. » » . .	38	38	38	36
5. » » . .	1	3	3	3
Putrificus (anaerob):				
2. dez. Verd. . .	280	290	290	290
3. » » . .	27	27	27	27
4. » » . .	2	3	3	3

22.* Plankton-Hydrolysat III — 2% Stärke — Agar

23. Plankton-Hydrolysat III — 1% Glucose — Agar

Bouillonverdünnungen (2% Eatan):
positiv gewachsen bis:
7. dez. Verd. (5×24 Std.) Coli
7. » » (5×24 Std.) Fluoreszens
6. » » (5×24 Std.) Putrificus (anaerob)

Ausgezählte Plattenkeime:	Stunden 2 x 24	3 x 24	5 x 24	8 x 24
Coli:				
3. dez. Verd. . .	400	420	420	420
4. » » . .	45	45	45	45
5. » » . .	5	5	5	5
Fluoreszens:				
3. dez. Verd. . .	380	430	440	440
4. » » . .	32	40	41	41
5. » » . .	3	4	6	6
Putrificus (anaerob):				
2. dez. Verd. . .	—	—	—	—
3. » » . .	—	—	—	—
4. » » . .	—	—	—	—

24.* Plankton-Hydrolysat III (4fach verdünnt) — Agar

25.* Plankton-Hydrolysat III (4fach verdünnt) — 2 % Stärke — Agar

26. Seewasser-Versuch

(beobachtet nach 4 × 24 Stunden 22° aerobe
weitere 1 × 24 » 36° »
» 2 × 24 » 36° anaerobe Bebrütung)

1. Verd. = 1 cm³ } unmittelbar vorher gewonnenes und verimpftes Seewasser.
2. » = 0,1 cm³ }

Agar — 2 % Eatan

Ausgezählte Plattenkeime:		Stunden 4 x 24	5 x 24	7 x 24
Grosse Kolonien:	1. Verd.	36	48	54
	2. »	3	5	7
Kleine Kolonien:	1. Verd.	170	200	240
	2. »	16	20	24

Agar — 2 % Eatan — 2 % Stärke

Ausgezählte Plattenkeime:		Stunden 4 x 24	5 x 24	7 x 24
Grosse Kolonien:	1. Verd.	68	70	70
	2. »	5	5	6
Kleine Kolonien:	1. Verd.	300	320	350
	2. »	20	22	29

Plankton II — Agar

Ausgezählte Plattenkeime:		Stunden 4 x 24	5 x 24	7 x 24
Grosse Kolonien:	1. Verd.	48	50	56
	2. »	4	4	6
Kleine Kolonien:	1. Verd.	300	350	350
	2. »	20	25	25

Plankton II — Agar — 2 % Stärke

Ausgezählte Plattenkeime:		Stunden 4 x 24	5 x 24	7 x 24
Grosse Kolonien:	1. Verd.	89	98	98
	2. »	7	8	8
Kleine Kolonien:	1. Verd.	340	400	420
	2. »	32	36	36

Wenn wir die gemachten Versuche vergleichend beurteilen, so zeigen sie ganz allgemein, dass sowohl die Hydrolysate tierisch-pflanzlicher Herkunft, als auch Kohlehydrate wachstumfördernd auf die verimpften Bakterien wirken, was sich in der Vermehrung der zur Ausbildung kommenden Kolonienzahl ausdrückt. Der *Agar (gew.) (1)*, der eigentlich das «Nährsubstrat ohne Zusatz» darstellt, lässt weitaus am wenigsten Kolonien angehen. *Agar-0,5 %-Eatan (2)* bringt bei der gleichen Beimpfung je nach der Keimart drei- bis achtmal soviel Kolonien hervor. In den Nährsubstraten 3—6 ist nun dieser Eatan-Zusatz (0,5 %) durch die im Institut hergestellten Hydrolysate ersetzt worden und zwar in der Weise, dass auf der Basis des Stickstoffgehaltes dieser Substanzen die entsprechend gleichwertigen Mengen derselben verwendet wurden. Die verschiedenen Nährsubstrate mit den verschiedenen Hydrolysatzusätzen können als gleichwertig angesprochen werden. Zwar gehen bei Fluoreszens-Beimpfung im Nährsubstrat 4 (L.-Hydrolysat) nur zwei Drittel der Kolonien wie im ursprünglichen Eatan-Nähragar (2) an. Dabei stellen diese ermittelten Zahlen Durchschnittswerte aus mindestens zwei Versuchen dar. Das extreme Ergebnis bei der Beimpfung mit Fluoreszens dürfte im wesentlichen an der Erkenntnis nichts ändern, dass die hier verwendeten Hydrolysate annähernd als gleichwertig in ihren wachstumverbessernden Eigenschaften zu bewerten sind bei Verwendung auf der gleichen Stickstoffbasis.

Bei den vorliegenden Auszählversuchen wurden immer drei aufeinanderfolgende Verdünnungen berücksichtigt. Einesteils erhält man dadurch die Möglichkeit, die drei so gefundenen Werte kombinatorisch bei der Beurteilung der Nährsubstrate zu verwerten, anderseits zeigt sich, dass die aufeinanderfolgenden Verdünnungen nicht streng zehnfache Unterschiede in der Kolonienzahl ergeben. Es weisen jene Verdünnungen, die grosse Kolonienzahlen hervorbringen (in unsern Versuchen 500, 600—700), in der nächstkleineren Verdünnung meist Kolonienzahlen auf, die grösser als zehnfach kleiner sind. Bei kleineren Kolonienzahlen zeigt sich eher, dass die nächstkleineren Verdünnungen nicht zehnmal, sondern elf-, zwölfmal weniger Keim-Kolonien aufweisen. Dies dürfte in der angewendeten Verdünnungstechnik liegen, während bei den vorher erwähnten, grossen Kolonienzahlen sich dies deshalb nicht zeigt, weil die Bakterien bei solch grossen Ueberimpfungsmengen sich in der Kolonienzahl gegenseitig hindern können, worauf schon früher hingewiesen wurde.

Der Versuch, durch Zusatz von grösseren Hydrolysatmengen bessere Wachstumsbedingungen zu schaffen, ergab folgende Resultate: Der Agar-2%-Eatan bringt gegenüber Agar-0,5%-Eatan ungefähr doppelt und gegenüber Agar (gew.) über zehnmal soviel Kolonien zur Ausbildung. Dabei ist die wachstumfördernde Wirkung für Putrificus (unter anaeroben Bedingungen) besonders gross, während sie für Fluoreszens demgegenüber bedeutend kleiner ist. Es scheint überhaupt, dass Agar (gew.) für Fluoreszens noch ein ziemlich gutes Nährmilieu abgibt, während Putrificus (anaerob) darauf kaum gedeihen kann: die Zusätze wirken bei dieser Keimart besonders wachstumfördernd, für Coli und speziell für Fluoreszens sind sie nicht dermassen wirksam: sie scheinen hier für das Wachstum nur von untergeordneter Bedeutung zu sein.

Nähragare mit noch grösserem Eatan-Zusatz als 2% zeigten in Versuchen, die hier nicht aufgeführt sind, nur ganz unverhältnismässig besseres Wachstum. Ein grosser Zusatz von Eatan dürfte für praktische Versuche auch deshalb nicht in Frage kommen, weil dadurch die Nährsubstrate sich wieder verteuern würden. Jedenfalls erweist sich von diesen verschiedenen Gesichtspunkten aus der Eatan-Zusatz von 2% als optimal: er scheint für Putrificus unter anaerober Bebrütung besonders günstige Wachstumsbedingungen zu bieten.

Eine entsprechende Vermehrung des C.-Hydrolysates, das als Beispiel eines weitern Hydrolysates gewählt wurde, bringt hier nicht die gleich steigernde Wirkung in der Kolonienbildung hervor, wie sie für Eatan von 0,5% auf 2% erkannt wurde. (Sie ist besonders für Coli kaum grösser als beim Nährsubstrat mit viermal kleinerem Zusatz.) Auch eine Verwendung dieses Hydrolysates in Kombination mit Stärke zeigt im Vergleich zu den analogen Versuchen mit Eatan weniger gute Ergebnisse.

Ausgehend von der Ueberlegung, dass im Seen-Plankton die für das Leben der See-Mikroorganismen nötigen Stoffe angereichert, d. h. incarniert sind, wurde versucht, durch saure und alkalische Hydrolyse dieses Materials ein für das Wachstum speziell der See-Bakterien besonders günstiges Nährsubstrat zu schaffen. Dabei ist zu berücksichtigen, dass durch die biozönotische Tätigkeit im See das Plankton während der verschiedenen Jahreszeiten gewissen Schwankungen unterworfen ist. Dies kommt bei den drei zu

den verschiedenen Zeiten gemachten Hydrolysaten zum Ausdruck: die Unterschiede sind aber hier nicht sehr gross. Die Versuche mit diesen Nährsubstraten (auch mit Kohlehydrat-Zusätzen) ergeben günstige Wachstumsresultate: sie werden aber von den andern synthetischen Substraten, speziell mit Eatan, eher übertroffen. Deshalb dürfte die Verwendung dieser Plankton-Nährsubstrate im allgemeinen nicht in Frage kommen: die langwierige und zum Teil komplizierte Gewinnung und Herstellung rechtfertigt sich nicht. Dass aber ein Bakterienwachstum darauf möglich ist, ergeben die gemachten Versuche; im speziellen zeigen die vorliegenden Versuche, dass mittels der Verwendung von Plankton-Hydrolysat-Nährsubstraten eine selektive Bestimmung der Wasserbakterien, speziell im Seewasser, gegenüber den bisher verwendeten Nährsubstraten von Vorteil ist (vergl. Versuch 26). Entsprechend günstige Ergebnisse sind besonders auch aus den serienmässigen bakteriologischen Untersuchungen des Zürichseewassers, welche im Verlauf der vergangenen drei Jahre von *Acklin* am Hygiene-Institut der E. T. H. ausgeführt wurden, zu verzeichnen.

Was den Ersatz der oben beschriebenen Hydrolysate durch solche von Kohlehydraten (Stärke und Glukose) anbetrifft, so zeigen die beiden verwendeten Stoffe eine ähnliche wachstumfördernde Wirkung wie die Hydrolysate. Dabei entsprechen ungefähr 1 % dieser Zusätze der Wirkung von 0,5 % Eatan. Glukose begünstigt, verglichen mit Stärke, besonders das anaerobe Wachstum von Putrificus; das Coli- und Fluoreszens-Wachstum wird durch Stärke viel mehr gefördert.

Unsere Versuche haben bewiesen, dass der in den bakteriologischen Laboratorien gebräuchliche Nähragar oder die Nährgelatine durch Zusätze von bestimmten Hydrolysaten in Verbindung mit Zusätzen von Kohlehydraten (Zucker und Stärke) nicht nur in Bezug auf seine grössere Produktionsfähigkeit, sondern auch in Bezug auf seine *qualitativen Eigenschaften* verbessert werden kann. Die Nährsubstrate, speziell die mit Eatan, lassen, verglichen mit den gewöhnlichen Nährsubstraten, die gewachsenen einzelnen Bakterien bzw. Bakterienkolonien viel üppiger und ausgeprägter angehen. Ferner lässt ein Eatan-Nährsubstrat in guter Ausbildung die im allgemeinen nur auf Spezialnährböden gedeihenden pathogenen Kokken und weitere, als schlechtwüchsig bekannte Arten, zur Ausbildung kommen*).

Wir halten daher auf Grund der vorliegenden Versuche sowie der etwa seit 3 Jahren am hiesigen Institut gemachten Erfahrungen dafür, dass ein sogenannter *Eatannährboden* zur Zeit das zweckmässigste und billigste *Universalnährsubstrat* in der bakteriologischen Technik darstellt. Dieses dürfte nicht nur die bekannten *Fleischwasserpeptonsubstrate,* sondern zum Teil auch Spezialnährböden ernährungsphysiologisch vollwertig und zweckmässig sowie mit Bezug auf die Gestehungskosten ersetzen bzw. übertreffen. Dabei

*) Z. B. erhält man auf einem Nähragar von der umstehend angegebenen Zusammensetzung und Herstellungsart bereits nach 8—12 Stunden bei 37° C. ein üppiges und vollkommenes Wachstum eines hämolytischen Streptococcus pyogenes.

ist ausser der Zusammensetzung die rasche und einfache Herstellungsmöglichkeit der Eatan-Nährsubstrate von grosser Bedeutung. Für den einzelnen Fall, d. h. je nach den besondern Anforderungen, die an ein bakteriologisches Nährsubstrat gestellt werden müssen, sind die Menge des Eatans und die weitern Zusätze (Kohlenstoffquelle) und die Art der Pufferung sowie der pH-Wert auszuwählen.

Nach den Erfahrungen von *Acklin* kommt dem «*Universal-Nährsubstrat für bakteriologische Zwecke*» folgende Zusammensetzung und Herstellungsvorschrift zu:

1 Liter destilliertes Wasser enthält:

18 g Agar-Agar (pulverisiert),
5 g Fleischextrakt «Liebig»,
10 g Pepton,
10 g Eatan[1]),
1 g Glukose,
10 g lösliche Stärke des Handels,
10 cm³ $\frac{m}{5}$-Phosphatpuffergemisch, pH = 7,2[2]).

Lösung I: Agar, Fleischextrakt und Pepton, z. B. Marke «Siegfried», werden in 750 cm³ Wasser, wenn möglich über Nacht, sonst 1—2 Stunden quellen gelassen und dann im Autoklaven bei 104° C. während 15 Minuten behandelt. — Für 2 — bzw. 3×750 cm³ hält man die entsprechenden Ingredienzien 20 bzw. 25 Minuten im Autoklaven und späterhin auf alle Fälle flüssig heiss. — Während sich Lösung I im Autoklaven befindet, oder schon vorher wird Lösung II hergestellt[3]).

Lösung II: Die Stärke, z. B. Marke «Siegfried», wird sorgfältig mit wenig kaltem destilliertem Wasser zu einem absolut homogenen Brei angerührt. Dieser wird langsam, d. h. portionenweise in 250 cm³ siedendes Wasser, dem 2 cm³ n-Natronlauge zugesetzt wurden, unter stetem Rühren eingetragen. Das Kochen wird noch 5—10 Minuten fortgesetzt, dann auf etwa 4° C. abgekühlt und, wenn nötig auf 250 cm³ ergänzt. Dann wird das Ganze durch ein doppeltes Faltenfilter bis zur völligen Klarheit gegossen; eventuell lässt man vorher die Stärkelösung dekantieren.

Nunmehr werden Lösung I und Lösung II zusammengegossen und soviel 2 n-Sodalösung zugegeben bis ein pH-Wert von 7,8—8,2 vorliegt (pH-Kontrolle!), worauf alles zusammen für maximum 5—10 Minuten in den Dampf-

[1]) *Eatan*, diätetisch-pharmazeutisches Präparat, wird von der Eatinon-Gesellschaft in München hergestellt und in Packungen (Flaschen) zu 60 g (3.—), 140 g (6.75), 460 g (17.—) und 1140 g (29.—) in den Handel gebracht. (Die Zahlen in der Klammer sind die Preise für das Produkt.) In der Schweiz haben *Mathys & Schaaff*, Gerbergasse 5, Zürich I, die *Generalvertretung des Eatans.*

[2]) Das $\frac{m}{5}$-Phosphatpuffergemisch wird hergestellt, indem man 27,24 g KH_2PO_4 und 28,36 g $Na_2HPO_4 . 2H_2O$ nach Sörensen je in 1 Liter dest. Wasser löst und 27 Teile saures Salz mit 73 Teilen basischem Phosphat mischt.

[3]) Man verwendet mit grossem Vorteil hier, wie auch sonst bei der Herstellung von bakteriologischen Nährsubstraten, die sog. «Wagner & Munz-Flaschen».

topf gegeben wird. Nachdem in einer abgekühlten Probe ein pH-Wert von mindestens 7,8 festgestellt wird und eine vollständige Ausfällung eingetreten ist, gibt man das Eatan, die Glukose und das Phosphatgemisch zu und kocht alles zusammen *einmal* auf. Dann wird klar filtriert. Dies erfolgt mittels des *Spezialpapierfilters No. 520b* $^1/_2$ «Faltenfilter nach Schleicher & Schüll» mit 50 cm Durchmesser. Im Filtrat wird der pH-Wert geprüft (Hellige-Apparat!) und, wenn nötig durch Zugabe von 2 n-Salzsäure genau auf den Wert von 7,0—7,2 eingestellt. Eine zweite Filtration ist meist unnötig, sie wird aber in der Regel bei Gelatine und Bouillon-Nährsubstraten rasch durch ein Doppel-Spezialfilter in der Hitze erreicht.

Das klare Filtrat wird je nach Bedarf, bzw. nach der Verwendungsart der Nährsubstrate zu 150—300 cm³ in *vorher sterilisierte* Kolben abgefüllt, mit Staniolverschluss versehen und dann bei 104° C. während 10 Minuten der Schluss-Sterilisation unterzogen. Für den *unmittelbaren Bedarf* wird das Nährsubstrat direkt in Röhrchen abgefüllt, die vorgängig trocken sterilisiert wurden. Die Schluss-Sterilisation dauert hier 5 Minuten bei 104° C. im Autoklaven.

Etude d'une boisson fermentée, à base de figues.

Par Dr. BERTHE PORCHET,
bactériologiste à la Station fédérale d'essais viticoles et arboricoles, à Lausanne
(Directeur: Dr. H. Faes).

Au cours de ces deux dernières années, s'est répandue dans le pays la consommation d'une boisson familiale, préparée avec de l'eau sucrée, quelques figues, quelques raisins secs, et une matière première désignée sous le nom de «ferment de raisins». Cette matière est constituée par des granules à contours irréguliers, blanchâtres et transparents, qui ont la double propriété de provoquer la fermentation alcoolique et de se multiplier.

Ce phénomène de multiplication semblant curieux, et la littérature consultée ne donnant pas de renseignements à ce sujet, il nous a paru intéressant de l'étudier, et d'examiner d'autre part quelle était la valeur hygiénique et alimentaire de la boisson en question, considérée par le public comme une «limonade sans alcool».

Granules dits «ferments de raisins».

Ils se présentent sous la forme de corpuscules, de forme irrégulière, dont les côtés mesurent 2—8 mm. Leur consistance est élastique: projetés sur une surface dure, ils rebondissent sans aucune modification de leur forme. Ils rappellent des fragments de gel d'agar concentré, tel que celui que l'on emploie en microbiologie; cette ressemblance a même faussé le diagnostic de certains auteurs, qui ont étudié superficiellement la question. Laissés à l'air, ils perdent de l'eau, se dessèchent, tout en conservant une certaine élasticité. Ecrasés, ils forment une pâte.