

<b>Zeitschrift:</b>	Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
<b>Herausgeber:</b>	Bundesamt für Gesundheit
<b>Band:</b>	45 (1954)
<b>Heft:</b>	1
<b>Rubrik:</b>	Bericht über die 65. Jahresversammlung der Schweizerischen Gesellschaft für analytische und angewandte Chemie am 18./19. September 1953 in Neuenburg = Compte-rendu de la 65 Assemblée annuelle de la Société suisse de chimie analytique et appliquée les 18 et 19 septembre 1953 à Neuchâtel

### **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:** 27.01.2026

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

MITTEILUNGEN  
AUS DEM GEBIETE DER  
LEBENSMITTELUNTERSUCHUNG UND HYGIENE

VERÖFFENTLICHT VOM EIDG. GESUNDHEITSAMT IN BERN

Offizielles Organ der Schweizerischen Gesellschaft für analytische und angewandte Chemie

TRAVAUX DE CHIMIE ALIMENTAIRE  
ET D'HYGIÈNE

PUBLIÉS PAR LE SERVICE FÉDÉRAL DE L'HYGIÈNE PUBLIQUE À BERNE

Organe officiel de la Société suisse de chimie analytique et appliquée

ABONNEMENT:

Schweiz Fr. 17.— per Jahrgang (Ausland Fr. 22.—) Preis einzelner Hefte Fr. 3.— (Ausland Fr. 4.—)  
Suisse fr. 17.— par année (étranger fr. 22.—) Prix des fascicules fr. 3 — (étranger fr. 4.—)

BAND - VOL. 45

1954

HEFT - FASC. 1

Bericht über die 65. Jahresversammlung  
der Schweizerischen Gesellschaft  
für analytische und angewandte Chemie

am 18./19. September 1953 in Neuenburg

Compte-rendu de la 65<sup>e</sup> Assemblée annuelle  
de la Société suisse de chimie analytique et appliquée

les 18 et 19 septembre 1953 à Neuchâtel

*Teilnehmer – Participants*

*A. Gäste — Invités*

M. P. A. Leuba, Regierungsrat, Neuenburg  
M. R. Rognon, Stadtpräsident, Neuenburg  
Prof. K. G. Bergner, Stuttgart  
Prof. R. Casares, Madrid  
M. F. Custot, Paris  
Dr. H. Keskin, Istambul  
Dr. R. Kessler, Brunnen

Fräulein Dr. M. Marzadro, Roma  
Herr Riedl, dipl. Ing., Wien  
M. Souverain, Paris  
Prof. Dr. A. Stoll, Basel

### *B. 133 Einzel- und Kollektivmitglieder*

Wenn Superlative in der Berichterstattung über wissenschaftliche Tagungen gebräuchlich wären, so hätte unsere Jahresversammlung in Neuenburg zweifellos solche verdient: Rekordbesuch von rund 160 Teilnehmern, ausgezeichnete Organisation, kulinarische Spitzenleistungen und last but not least eine Reihe von Referaten, die zum voraus grosses Interesse erwarten liessen.

Das wissenschaftliche Programm des ersten Tages war dem Thema «Mikrobiologie, Bakteriologie und Hygiene» gewidmet.

Kollege Dr. *F. Achermann* darf für die tadellose Organisation der Jahresversammlung des aufrichtigen Dankes aller Teilnehmer versichert sein.

Herzlicher Dank gebührt auch den zahlreichen Donatoren, die durch ihre schönen Gaben wesentlich zum Gelingen unserer Tagung beigetragen haben:

République et Canton de Neuchâtel  
Ville de Neuchâtel  
Ebauches S. A., Neuchâtel  
Ed. Dubied & Cie. S. A., Neuchâtel  
Métaux Précieux S. A., Neuchâtel  
Ammann & Cie. S. A., Neuchâtel  
Papeteries S. A., Neuchâtel-Serrières  
Hôtel Vue-des-Alpes S. A.  
Chocolat Suchard S. A.  
Fabriques de tabac réunies S. A., Serrières  
Gillette Safety Razor Co., Neuchâtel  
Roland Morat S. A., Morat  
Ernest Borel & Cie. S. A., Neuchâtel  
Barbezat & Cie., Fleurier (Agents généraux de  
F. Hoffmann-La Roche & Co. S. A., Bâle)  
Chocolats Klaus S. A., Le Locle  
Canada Dry S. A., Le Landeron  
Domaine Ernest de Montmollin & Fils, Auvernier  
Adrien Rudin-Virchaux, «La Grillette», Cressier  
De Montmollin & Cie., Château d'Auvernier  
Mr. Gustave Schneider, Directeur du Palais du Peyrou,  
Neuchâtel.

## 1. Sitzung

Freitag, den 18. September 1953  
in der Aula der Universität, Neuenburg

Kurz nach 14.00 Uhr eröffnet unser Präsident, Herr Prof. Högl, die Versammlung, wobei er ausser den ordentlichen Mitgliedern unsere Ehrenmitglieder

Dr. J. Pritzker, Bern, und  
Dr. E. Truninger, Bern,

sowie

Prof. A. Stoll, Basel,

als Präsident des Schweiz. Komitees für Chemie,

Herrn Dr. R. Kessler, Brunnen,

als Präsident der Gesellschaft schweiz. Lebensmittelinspektoren, sowie eine Reihe ausländischer Gäste begrüssen kann.

Prof. Dr. T. Wikén, Zürich, der für den zweiten Hauptvortrag «Über die Physiologie der saccharolytischen Klostridien» vorgesehen war, lässt sich entschuldigen, da er krankheitshalber an der Teilnahme verhindert ist. Prof. Högl kann aber die erfreuliche Mitteilung machen, dass an seiner Stelle unser Mitglied Dr. Ritter mit einem Vortrag «Über Ergebnisse neuerer Forschungen über die Ernährung der Milchsäurebakterien» einspringen werde.

Nachdem keine Änderungen in der Programmfolge gewünscht werden, kann der Präsident mit dem ersten Traktandum beginnen.

## Jahresbericht 1952/53

Das Protokoll der 64. Jahresversammlung wurde den Mitgliedern mit Heft 2 der «Mitteilungen» zugestellt. Da keine Bemerkungen dazu eingingen, ist es genehmigt und wird dem Aktuar, Herrn A. Jaton, bestens verdankt.

*Mitgliederbewegung.* An neuen Mitgliedern wurden vom Vorstand aufgenommen:

a) als Einzelmitglieder:

Dr. P. Anker, La Tour de Peilz	Dr. G. de Meuron, Basel
Dr. A. van Baerle, Münchenstein	Dr. A. Müller, Bern
Dr. E. Baumgartner, Bern	Dr. C. Portner, Vevey
Ing. chem. H. Berger, Balstal	Dr. R. Riklin, Zürich
A. Bosshardt, Schlieren und Kanada	Dr. R. Schilling, Schaffhausen
Dr. Gmachl-Pammer, Innsbruck	Dr. E. Schütz, Oerlikon
Dr. J. Kleinert, Zürich	Frl. E. Tornow, München
Dr. H. Kramer, Belp-Bern	Dr. H. Utiger, Zürich
Ing. chem. B. Melcher, Chur	Dr. J. Wicky, Luzern

b) als Kollektivmitglieder:

Fabriques de Tabac Reunies S.A., Serrières-Neuchâtel  
Var S.A., Luzern  
19 Lebensmitteluntersuchungsanstalten

Die neuen Mitglieder werden herzlich willkommen geheissen und die Hoffnung ausgedrückt, dass ihnen allen die Gesellschaft zu einer Quelle reicher Anregungen werde und dass umgekehrt die neuen Kräfte derselben wertvolle Impulse bringen mögen.

Herr Prof. Treadwell, Zürich, hat der Gesellschaft 35 Jahre lang die Treue gehalten, womit er in den Genuss der Freimitgliedschaft gelangt.

3 langjährige Mitglieder sind uns durch den Tod entrissen worden:

Herrn Dr. *L. Geret* wäre in dem kommenden Jahre die Freimitgliedschaft zugefallen. Seit 1919 gehörte er der Gesellschaft an.

Er war von Haus aus Apotheker. 1899 schloss er seine Studien mit dem Doktorexamen an der Universität München ab. Seit dem Jahre 1901 arbeitete er in den Liebig-Fleischextrakt-Fabriken in Antwerpen bis zum Ausbruch des 1. Weltkrieges. Die Nachweismethode von Kreatinin nach Folin-Geret bringt allen Lebensmittelchemikern den Namen des Dahingeschiedenen recht häufig und bestens in Erinnerung. 1917 trat Geret in den Dienst der Konservenfabrik Lenzburg über, verliess diese Stellung jedoch 1923, um eine Fabrik für Farben und Lacke in Rorschach zu übernehmen.

Hochbetagt verschied er im Oktober 1952. Seinem Sohne, der ebenfalls langjähriges und treues Mitglied der Gesellschaft ist, drückt der Präsident im Namen aller Anwesenden sein herzliches Beileid aus.

Dr. *Albert Eberhardt*, St. Imier, war Mitglied der Gesellschaft seit 1912 und damit Freimitglied.

1875 in St. Imier geboren, studierte er an der Universität Bern die Naturwissenschaften und wurde in der Folge Lehrer für Mathematik und Chemie am Collège von St. Imier.

Dr. Eberhardt war sehr allgemein naturwissenschaftlich interessiert. Er wandte sich vor allem botanischen Studien zu und galt als bedeutender Spezialist auf dem Gebiet der Moose. Die wissenschaftliche Literatur verdankt ihm eine Reihe von Publikationen speziell auf diesem Gebiet.

Am 16. August 1953 verstarb, in noch relativ jugendlichem Alter, Herr *Gustave Piguet*. Seit 1921 war er in der Landwirtschaftlichen Versuchsanstalt in Lausanne speziell auf önologischem Gebiet tätig gewesen. In geduldiger und unermüdlicher Arbeit hat er vor allem versucht, der Praxis zu dienen und die Vinifikation in dieser Weise zu verbessern. Sicherlich ist mancher Fortschritt,

der in der Zwischenzeit auf diesem Gebiete eingetreten ist, seinen Bemühungen zuzuschreiben. Grosse Zuvorkommenheit und Hilfsbereitschaft waren ihm eigen, was für den Erfolg seiner Arbeiten sicher von grosser Bedeutung war.

Die Anwesenden ehren das Andenken der Verstorbenen durch Erheben von den Sitzen.

Der Mitgliederbestand stellt sich damit auf:

	1953	1952
Ehrenmitglieder	8	6
Einzelmitglieder	243	227
Kollektivmitglieder	109	88
Total	360	321

Über die Arbeit der Gesellschaft und über andere Ereignisse von einiger Bedeutung wird unter den folgenden Traktanden berichtet.

Mit restlosem Einverständnis wird der Jahresbericht von der Versammlung genehmigt.

Es folgt der

### **Kassabericht und Bericht der Rechnungsrevisoren**

Wie gewohnt beweist der Kassabericht die mustergültige Betreuung unserer materiellen Güter durch unseren Kollegen Dr. *L. Gisiger*. Die geringfügige Vermögensverringerung von Fr. 210.80 kann kaum zu Besorgnis Anlass geben. Auf Antrag der Rechnungsrevisoren (Dr. *Terrier* und Dr. *Müller*) wird die Jahresrechnung unter bester Verdankung an den Kassier einstimmig genehmigt.

### **Kommissionsberichte**

*Schweiz. Komitee für Chemie* (früher *Conseil de la Chimie Suisse*). Referent: Prof. Dr. *A. Stoll*.

Prof. Dr. *A. Stoll*, Präsident des Komitees, gibt einen interessanten Überblick über die Arbeiten und Probleme dieser Institution, der bekanntlich unsere Gesellschaft als Mitglied angehört. Er führt ungefähr folgendes aus:

«Ein Traktandum, das uns im *Conseil de la Chimie Suisse* seit einigen Jahren beschäftigte, konnte praktisch zu einem guten Ende geführt werden, nämlich die Revision unserer Statuten vom 31. Oktober 1931 unter Anpassung an die neuen Verhältnisse. Der neue Wortlaut der Statuten ist von den Vorständen der drei Verbandsgesellschaften gutgeheissen worden.

Die Divergenz zwischen den beiden Namen 'Conseil de la Chimie Suisse' und 'Verband der Schweiz. Chemischen Gesellschaften' hatte oft zu Missverständ-

nissen geführt, und so haben wir als neue Bezeichnung „Schweiz. Komitee für Chemie — Comité Suisse de la Chimie“ gewählt. Damit ist unser internationales Organ zugleich auch gegenüber der Internationalen Union unmissverständlich bezeichnet.

Dem Sinne nach haben die neuen Statuten keine wesentlichen Änderungen gegenüber den alten erfahren, doch sind gewisse Umstellungen und Vereinfachungen vorgenommen worden. Die Stellung des Schweiz. Komitees für Chemie gegenüber der Schweiz. Naturforschenden Gesellschaft und gegenüber den Bundesbehörden wurde präzisiert. Die absolute Zahl für die Kostenbeiträge wurde weggelassen, indessen die prozentuale Beteiligung der drei Verbandsgesellschaften beibehalten.

Als nationale Delegierte zur 17. Konferenz in Stockholm wurden aus finanziellen Rücksichten in erster Linie Herren bezeichnet, die ohnehin beabsichtigten, nach Stockholm zu gehen. Es waren dies die Herren:

Prof. *E. Cherbiliez*, Universität Genf  
Prof. *A. Guyer*, ETH Zürich  
Prof. *Ch. Haenny*, Universität Lausanne  
Prof. *P. Karrer*, Universität Zürich  
Prof. *G. Schwarzenbach*, Universität Zürich  
Prof. *A. Stoll*, Universität Basel  
Prof. *P. E. Wenger*, Universität Genf.

Prof. *Guyer* musste aus Gesundheitsrücksichten der Konferenz in Stockholm fern bleiben.

Als offizielle Schweizer Delegierte wurden vom Bundesrat bezeichnet:

Prof. *A. Stoll* und Prof. *Ch. Haenny*,

letzterer als Präsident der „Commission des Tables de Constantes“, als Nachfolger von Prof. *Briner*, und zwar unter der ausdrücklichen Bedingung, dass die Reisekosten nur für einen Delegierten aus Bundesmitteln vergütet würden.

Nachdem schweizerischerseits allseitig der Wunsch bestand, die „Internationale Union für reine und angewandte Chemie“ zu ihrer 18. Konferenz und zum 14. Kongress für organische Chemie 1955 in die Schweiz einzuladen, so waren noch Ort und Zeit für diese Veranstaltungen zu bestimmen. Die Schweiz. Chemische Gesellschaft war der Meinung, dass allein Zürich in Frage komme, weil nur dort genügend Auditorien für 12—15 parallel laufende Vortragsprogramme zur Verfügung stünden und weil auch nur Zürich genügend Unterkunftsmöglichkeiten für die zu erwartenden 3000—4000 Kongressteilnehmer bieten würde. Da das Semester an der Universität und an der Eidg. Techn. Hochschule am 16. Juli schliessen wird, kann die Konferenz am 20. und der Kongress am 21. Juli 1955 eröffnet werden.

Die Schweiz. Gesellschaft für Chemische Industrie hat einen Beitrag von Fr. 250 000.— an den Kongress in Aussicht gestellt.

Der 13. Kongress der Internationalen Union für reine und angewandte Chemie, welcher der physikalischen Chemie gewidmet war, hat vom 29. Juli bis 4. August d.J. in Stockholm stattgefunden; vom 5. bis 7. August war er von einem gross angelegten Symposium in Upsala gefolgt.

Die Ländervertretungen der Internationalen Union sind in drei Kategorien aufgeteilt:

Länder der Kategorie A, zu denen auch die Schweiz gehört, haben das Recht auf 6 Delegierte und hatten bisher einen minimalen Jahresbeitrag von \$ 675.– an die Union zu leisten.

Länder der Kategorie B haben das Recht auf 4 Delegierte und zahlten bisher einen minimalen Beitrag von \$ 525.–

Länder der Kategorie C mit nur 2 Delegierten waren bis heute zu einem Jahresbeitrag von \$ 375.– verpflichtet.

Diese Beiträge sind in den Statuten verankert; Änderungen können nur im Zusammenhang mit einer Statutenrevision vorgenommen werden. Dies soll nun bei der nächsten Konferenz 1955 geschehen, und es sollen von da an

Länder der Kategorie A zur Zahlung eines Jahresbeitrages von \$ 1300.–

Länder der Kategorie B zur Zahlung eines Jahresbeitrages von \$ 800.–

Länder der Kategorie C zur Zahlung eines Jahresbeitrages von \$ 450.–

verpflichtet werden. Da sich die Union aber bereits jetzt in Geldnöten befindet, wurde den Delegierten ans Herz gelegt, in ihren Ländern dahin zu wirken, dass die erhöhten Beiträge bereits für die Jahre 1954 und 1955 geleistet werden.

Die Einladung der Schweiz. Delegation anlässlich des Kongresses in Stockholm, die 18. Konferenz der Internationalen Union und den 14. internationalen Chemie-Kongress in der Schweiz abzuhalten, wurde mit lebhaftem Beifall und ohne irgendwelche Opposition angenommen. Damit ist das Schweiz. Komitee für Chemie mit der Durchführung der Konferenz und des Kongresses im Jahre 1955 offiziell beauftragt worden.»

*Commission Suisse du lait.* Rapporteur: Dr *Balavoine*.

L'activité du Comité et des Sous-comissions spéciales est liée naturellement à celle du Service fédéral de l'hygiène publique. C'est ainsi que nous avons apporté notre collaboration aux décisions officielles récentes concernant la *pasteurisation de la crème* et les *conserves de lait*.

Le problème du *lait de consommation* fut encore traité cette année, en corrélation avec la discussion sur le statut du lait et en fonction de la loi fédérale sur l'agriculture. On a encore délibéré et agit utilement à propos du *paiement à la qualité du lait de consommation* de sorte qu'après tous ces travaux on pourra passer à l'exécution de prescriptions généralisées, problème cependant difficile dans notre Suisse si diverse.

*L'homogénéisation du lait, la standardisation du lait pasteurisé en bouteille, l'inscription des dates sur les bouteilles de lait, sont autant de questions encore en discussion. Leur réalisation dépendra des études en cours au sein des Commissions spéciales, de même que l'adoption d'un schéma d'épreuve de propreté, l'installation de soupapes commutatrices automatiques dans les pasteurisateurs à plaques et le nettoyage des machines à traire.*

Notons encore parmi les réalisations, la réédition de la brochure: «*Was muss jeder Landwirt von den chronischen Tierseuchen wissen?*» et celle prochaine: «*Der Milchviehstall*».

Au chapitre des relations internationales signalons que la *Convention de Stresa sur l'appellation des fromages*, ratifiée par le Parlement fédéral sera probablement bientôt mise en exécution, et qu'une Commission internationale sur *le lait desséché* a été créée. Le XIIIe Congrès international de laiterie a eu lieu cet été à La Haye.

*Kommission für Seifen- und Waschmittel.* Referent: Dr. Sturm.

An der letzten Jahresversammlung ist in einem kurzen Tätigkeitsbericht der Kommission zur Bearbeitung des Seifenbüchleins der Meinung Ausdruck gegeben worden, dass bis zur diesjährigen Versammlung die Revision des Büchleins beendet sein könnte. Leider sind wir noch nicht so weit, und zwar aus verschiedenen Gründen. Erstens hat unser lieber Herr Dr. Iselin, wie bekannt, für lange Zeit die Arbeit niederlegen müssen. Dasselbe gilt auch von Herrn Dr. Albrecht, unserem wissenschaftlichen Berater in Fragen von synthetischen Waschmitteln; drittens war der verbleibende Rest der Kommission mit Arbeit eineswegs stark belastet, wobei ich besonders Herrn Weder von der EMPA erwähnen möchte, und viertens, und dies ist der Hauptgrund, weiß jedermann, der etwas Einblick in die Seifenindustrie hat, dass in diesen Jahren eine ausserordentliche Umwälzung stattfindet. Neue Produkte, neue Waschmethoden erscheinen am laufenden Band und bedingen Berücksichtigung in bezug auf Analytik und Beurteilungsmöglichkeit in praktischer Hinsicht.

Die Seifenbüchlein-Kommission hat seit der letzten Jahresversammlung zwei Sitzungen abgehalten, und zwar am 10. Oktober 1952 in Bern und am 18. Juni 1953 in Basel. Viel zu reden gab die Analyse der Phosphate. Es liegt eine Arbeit vor, wie diese verschiedensten Phosphate nebeneinander identifiziert werden können. Wie sich aber gezeigt hat, setzt sie gewisse Erfahrungen voraus, so dass noch eine Lösung gesucht wird, um diese äusserst wichtige Analyse sicherer zu gestalten. Dann ist neu aufgenommen worden die Bestimmung von kalkseifenverhügenden Mitteln in Gestalt der Komplexone, Sequestrene und Trilone. Die technische Kommission der Union der Seifenfabrikanten der Schweiz hat ihrerseits Normen zur Beurteilung der Seifen und Waschmittel, auch der synthetischen aufgestellt. Die Arbeiten stehen auch dort vor dem Abschluss und sollen selbstverständlich im Seifenbüchlein berücksichtigt werden.

Es hat sich gezeigt, dass diese Revision des Seifenbüchleins in Anbetracht der zur Zeit vor sich gehenden Umwälzungen mehr Zeit beansprucht als vorgesehen. Trotzdem sollten nun diese Arbeiten, wenn nicht alles trügt, bis zum kommenden Sommer abgeschlossen sein. Da die Seifenbüchlein-Kommission sehr billig arbeitet, indem die Kasse der Schweizerischen Gesellschaft für analytische und angewandte Chemie kaum tangiert wird, haben die Mitglieder der Kommission trotz der zeitlichen Übermarchung keine Gewissensbisse.

*Tabakkommission.* Referent: Dr. Staub.

Bei der Bestellung der schweizerischen Tabakkommission durch unsere Gesellschaft wurde die Aufgabe wie folgt umrissen. Es ist vor allem die Revision der Nicotinbestimmungsmethode an die Hand zu nehmen. Ferner ist eine Methode für die Adsorptionsfähigkeit von Filtern auszuarbeiten usw. Als anschliessende Aufgabe ist die Revision des Abschnittes Tabak und Tabakerzeugnisse in der eidg. Lebensmittelverordnung durchzuführen.

Unsere Kommission hat zunächst als Subkommission für die Bearbeitung der 5. Auflage des schweizerischen Lebensmittelbuches gearbeitet. Der Entwurf für den Abschnitt «Tabak und Tabakerzeugnisse» konnte der Lebensmittelbuchkommission eingereicht werden. Das ganze Kapitel wurde weitgehend umgearbeitet und vor allem ergänzt durch folgende Methoden:

Ausführliche mikroskopische Beschreibung des Tabakblattes  
Chromatographischer Nachweis von Glycerin und Glycolen  
Wasserbestimmung mittels Destillation.

Nicotinbestimmung als Dipikrat  
Nikotin- und Teerbestimmung im Tabakrauch  
Prüfung von Nikotinfiltern.

Damit ist die erste Aufgabe unserer Kommission als vorläufig beendigt zu betrachten. Noch im Laufe dieses Jahres wird nun mit der Revision des entsprechenden Kapitels in der Lebensmittelverordnung begonnen.

*Lebensmittelbuchkommission.* Referent: Prof. Högl.

1. Band: Die Arbeiten am 1. Band gehen dem Ende entgegen. Es ist zu hoffen, dass dieses Werk im kommenden Jahre (1954) zum Abschluss gelangen wird, so dass man wohl 1955 auf eine Veröffentlichung rechnen kann.

2. Band: Die hier eingesetzten 17 Kommissionen sind grossenteils intensiv an der Arbeit. Einzelne sind schon ziemlich weit voran. Es wird daran erinnert, dass das Erscheinen des Werkes durch denjenigen bestimmt wird, welcher seine Arbeit zuletzt ab liefert.

Eine Anregung aus Mitgliederkreisen erscheint dem Referenten als sehr zweckmässig; es ist dies die *Bekanntgabe aller Methoden*, die in den verschiedenen hier vertretenen Laboratorien genau bearbeitet, verbessert, unter Umständen auch neu entwickelt wurden.

Alle Anwesenden und alle Leser der «Mitteilungen» werden ersucht, entsprechende Mitteilungen an den Präsidenten der Lebensmittelbuch-Kommission (an das Eidg. Gesundheitsamt) oder an den Präsidenten der betreffenden Subkommission zu richten.

Manche Publikation kann übersehen werden, vieles bleibt aber auch unpubliziert, ohne weniger wertvoll zu sein.

Es muss unser Ziel sein, diesen *wertvollen Schatz* an Wissen heben zu können und einem grösseren Kreise zugänglich zu machen.

## Statutenrevision

Die vom Vorstand neu bearbeiteten Statuten sind den Mitgliedern bereits einige Wochen vor der Jahresversammlung als Probedruck zugestellt worden. Prof. *Högl* macht einleitend in bezug auf die Mitgliederbeiträge darauf aufmerksam, dass für ausländische Mitglieder der Mitgliedsbeitrag Fr. 20.— (und nicht Fr. 25.—, wie im Probedruck aufgeführt) beträgt. Einige kleine Unklarheiten, die in der Diskussion erwähnt werden, sollen vom Vorstand noch bereinigt werden, so beispielsweise die Ergänzung, dass lebenslängliche Mitgliedschaft nur für Einzelmitglieder, nicht aber für Kollektivmitglieder in Frage komme. Die Annahme der revidierten Statuten erfolgt in der Abstimmung einstimmig.

## Wahlen

Die dreijährige Amtsperiode des Vorstandes ist abgelaufen und Präsident und übrige Vorstandsmitglieder sind neu zu wählen.

Prof. *Högl* gibt die Erklärung ab, dass er sein Amt gerne einer neuen Kraft überlassen möchte, andererseits aber vom Vorstand wiederholt gebeten worden sei, die Leitung unserer Gesellschaft noch für eine weitere Amtsdauer zu übernehmen. Er habe sich schliesslich entschlossen, dem Wunsche des Vorstandes zu entsprechen und würde sich einer Wiederwahl nicht widersetzen. Lieber wäre es ihm jedoch, wenn er das Präsidium nach 5 Jahresversammlungen einer neuen Kraft übergeben könnte. Er gewärtige daher Vorschläge.

Der Wahlakt wird vom Vizepräsidenten, Dr. *E. Jaag*, durchgeführt. Mit grosser Akklamation wird Prof. *Högl* in seinem bisherigen Amt bestätigt. Dr. *Jaag* spricht ihm zu dieser eindeutigen Kundgebung die herzlichsten Glückwünsche und ebenso herzlichen Dank für seine bisherige Tätigkeit aus. Er benützt ferner die Gelegenheit, der Versammlung mitzuteilen, dass Prof. *Högl* vor wenigen Tagen anlässlich der Jahresversammlung der Gesellschaft deutscher Chemiker in Hamburg eine grosse Ehrung erfahren durfte, indem ihm die Joseph-König-Medaille überreicht wurde. Der herzliche Beifall mag unserem verdienten Präsidenten bewiesen haben, welch grosser Sympathie er sich in unserem Kreise erfreuen kann.

Es folgt die Wahl der übrigen Vorstandsmitglieder. Von den bisherigen stellen sich die Herren *Dr. F. Achermann*, *Dr. L. Gisiger*, *Dr. M. Staub* und *Dr. E. Jaag* für eine Wiederwahl zur Verfügung.

Demissioniert haben die Herren *Prof. Dr. M. Bornand* und *Ing. agr. Jaton*. *Prof. Högl* benützt die Gelegenheit, den beiden Zurücktretenden den herzlichen Dank für ihre stete Bereitschaft und Mitarbeit im Vorstand auszudrücken.

Im fernern teilt er mit, dass auch die übrigen Vorstandsmitglieder bereit sind, ihre Pflichten in andere Hände zu legen, wenn dies der Wunsch der Gesellschaft sei.

Als Ersatz für die beiden ausscheidenden Vorstandsmitglieder schlägt der Vorstand die beiden Herren

*Dr. A. Schürch*, Institut für Haustierernährung der ETH Zürich, und  
*Dr. J. Deshusses*, Kantonschemiker, Genf

vor. Weitere Vorschläge werden von der Versammlung nicht gemacht. Auf Anfrage des Präsidenten wünscht die Versammlung offene Abstimmung. Mit Akklamation werden sowohl die bisherigen als auch die neuen Vorstandsmitglieder gewählt.

### *Wahl der Rechnungsrevisoren*

Zur Zeit amten als Rechnungsrevisoren die Herren *Dr. Terrier* aus Genf und *Dr. Müller* aus Basel.

*Dr. Terrier* äussert sich dahingehend, dass er — nachdem er sein Amt nun 10 Jahre innegehabt habe — zurückzutreten wünsche. Der Präsident nimmt von diesem Rücktritt Kenntnis und dankt mit herzlichen Worten die langjährige, vorbildliche Arbeit *Dr. Terriers*.

Für die Neubesetzung dieses Postens wird *Dr. Hadorn*, Basel, vorgeschlagen. Weitere Vorschläge fallen nicht; *Dr. Hadorn* wird gewählt und wird fortan zusammen mit *Dr. Müller* die Kassarevision betreuen.

### **Festsetzung des nächstjährigen Tagungsortes**

Da die letzte Jahresversammlung im Kanton Graubünden viele Jahre zurückliegt, ist der Vorstand übereingekommen, für die nächste Tagung einen Ort im Kanton Graubünden vorzuschlagen. Welcher Ort in Frage kommt — beispielsweise Flims, Lenzerheide, St. Moritz usw. — soll noch abgeklärt werden. Kollege *Melcher* erklärt sich bereit, die Organisation zu übernehmen. Der Vorschlag wird mit lebhafter Akklamation angenommen.

## **Verschiedenes**

Aus der Versammlung fallen unter Traktandum «Verschiedenes» keine Voten.

Der Präsident, Prof. *Högl*, gibt der Versammlung bekannt, dass der Vorstand beschlossen hat,

**Prof. Bornand**

in Würdigung seiner wissenschaftlichen Tätigkeit und langjährigen Tätigkeit als Vorstandsmitglied

**zur Ernennung zum Ehrenmitglied vorzuschlagen.**

Der Vorschlag wird von der Versammlung mit grossem Beifall angenommen, und Prof. *Bornand*, von dieser Ehrung überrascht, dankt mit herzlichen Worten.

## *Wissenschaftlicher Teil*

1. Conférence de M. Dr *M. A. Roulet*, Berne:

### **Les vitamines du sol et leur action sur les végétaux**

Il est impossible de parler des vitamines du sol sans, dans une introduction, chercher à donner un aperçu de la physiologie végétale. Cette science s'occupe des micro-organismes qui vivent dans le sol et des plantes supérieures dont les graines germent dans divers terrains nommés marais, garrigue, steppes, déserts, toundra ou savannes. Elle s'occupe aussi des graines soigneusement récoltées qui germent dans des sols défrichés, contrôlés chimiquement, travaillés par l'homme et dont la fertilité est artificiellement conservée pour donner le plus longtemps possible des récoltes optimales.

Ce sont ces conditions de vie si variées, imposées aux micro-organismes et à la graine qui tombe sur le sol, qui donnent à la physiologie végétale une importance capitale. Nous connaissons des plantes ayant besoin d'un support (les épiphytes) et d'autres ne vivant que sur des organismes végétaux (les parasites).

Parlant de récolte nous pensons implicitement à la nutrition et nous incorporons dans un cycle très étendu où se trouvent déjà les végétaux dits autotrophes, l'homme et les animaux, des organismes hétérotrophes, incapables de faire toutes les synthèses chimiques nécessaires à leur vie.

L'homme hétérotrophe a trouvé sur son passage des régions à végétation luxuriante. La forêt était si dense qu'elle inspirait la crainte, il fallait défricher énergiquement pour créer des lieux d'habitation. Une fois établi, on favorisait la culture des plantes utiles. L'homme maître de la nature utilisait ses outils, dirigeait les cultures, profitait des sols et des récoltes. Un instinct le préservait de la plus grande maladresse, il ressentait en lui la nécessité de ne pas détruire

définitivement le végétal. Bien qu'aucune expérience de laboratoire n'ait encore démontré les dépendances respectives entre le règne animal et le règne végétal, il prévoyait que la disparition des plantes entraînerait inexorablement sa propre disparition. En travaillant le sol dont il ne connaissait pas toutes les ressources, il prenait soin de maintenir un équilibre entre ses besoins nutritifs et les besoins nutritifs des végétaux. En fait, il cherchait des rapports de bon voisinage. Seuls les travaux de laboratoire, l'analyse et la synthèse devaient faire connaître le métabolisme végétal et dans les périodes d'utilisation intensive des sols, favoriser ces bons rapports. Chaque condition d'expérience peut être comparée à certaines conditions naturelles et avec précaution, utilisée dans la pratique. En faisant de la physiologie végétale, nous faisons aussi de l'agronomie.

Les problèmes sont clairement posés mais les bonnes interprétations sont rares et jamais définitives. En laboratoire, l'organisme végétal nous apprend à être méfiant, les réactions aux traitements que l'on applique, peuvent être capricieuses. Le végétal, plus que l'homme, a le pouvoir d'adaptation au milieu chimique; nous créons facilement des effets passagers qui ne peuvent pas donner de lois rigides. La physiologie végétale appliquée eut des progrès très lents et parfois des revers.

L'eudiométrie avait permis d'étudier les échanges gazeux chez les plantes et les animaux. On savait la plante verte autotrophe, c'est-à-dire capable de former ses hydrates de carbone à partir du CO<sub>2</sub> de l'air, avec comme catalyseur organique, la chlorophylle. Le degré d'autotrophie par rapport aux constituants du sol était moins établi. Il fallait savoir si seuls les minéraux du sol interviennent ou si des molécules organiques préformées, provenant des cadavres d'êtres organisés étaient absorbées par la racine. C'est cette question qui aujourd'hui encore, nous passionne et c'est ce qui reste valable des théories de «l'humus».

Les méthodes dont se servait de Saussure, en 1804, étaient nouvelles mais encore très unilatérales puisqu'il fallait analyser les substances recherchées, après combustion dans l'oxygène. La molécule organique ne pouvait être dosée quantitativement dans le sol et dans la plante. Depuis vingt ans, les tests biologiques, utilisés aussi en physiologie humaine, peuvent rendre de grands services pour l'étude des échanges de molécules organiques entre les plantes et les micro-organismes qui vivent dans le sol. C'est ainsi que *Schopfer*<sup>1)</sup> put démontrer l'identité d'action sur l'animal et sur le végétal des vitamines de Funk. Ces molécules organiques sont pour la plupart des co-enzymes de ferments qui participent au métabolisme végétal et animal. *Schopfer* démontra aussi l'existence d'organismes dits auxo-autotrophes et auxo-hétérotrophes. Ces organismes, des champignons et des bactéries, se trouvent dans le sol et cet auteur prévoit, en 1939, un cycle des facteurs de croissance. Pour étudier en détails certains points de ce cycle, nous avons entrepris, à l'Institut botanique de l'Université de Berne, des recherches où à l'aide du test *Phycomyces* pour la vitamine B<sub>1</sub> et du test *Saccharomyces cerevisiae* pour la biotine, nous avons dosé les facteurs de croissance vitaminiques dans des extraits aqueux de sol.

Les résultats obtenus démontrent que tous les sols ne contiennent pas en même quantité ces vitamines. Les dépôts organiques des hauts marais, de la craie lacustre ou des sols de forêt sont plus riches en vitamines que les terres de montagne, des pâturages jurassiens ou de jardins.

Les quantités de vitamines dans le sol se trouvent en proportion des doses habituellement actives en biologie. Nous devons exprimer l'aneurine en gamma alors que pour la biotine il s'agit de milligamma.

Au cours d'une année <sup>2)</sup>, le taux en aneurine et en biotine du sol subit des variations. Ces variations saisonnières ont été enregistrées et l'on voit sur le diagramme que la chute des feuilles en automne provoque une augmentation des vitamines dans le sol. Le gel de décembre fait diminuer dans les couches supérieures du sol l'aneurine et la biotine; par contre, on note une nette augmentation du contenu en vitamines dans la couche médiane de la rhizosphère (20 cm de profondeur).

Il est possible d'influencer le contenu en vitamines du sol en ajoutant à la terre diverses substances. C'est ainsi qu'un dépôt de fumier de ferme augmente après peu de temps déjà le taux en vitamines de la rhizosphère. Cette action peut être interprétée de plusieurs façons. Nous pouvons par exemple, envisager que les vitamines, mises en évidence dans les fumiers de ferme par le test microbiologique, se sont répandues dans le sol et l'ont enrichi. Nous pouvons aussi expliquer cette augmentation en disant que les micro-organismes du sol, qui synthétisent les vitamines, bénéficient de l'amélioration générale et se développent intensément. En traitant un sol par des solutions de sulfamidés, nous obtenons, pour les faibles doses de cibazol, une stimulation qui se traduit par une augmentation du taux en vitamines. Lorsque le traitement est prolongé, nous retrouvons moins de vitamines dans les extraits de sol. Ceci semble être le reflet d'une «stase» provoquée dans le sol par les sulfamidés.

Toutes les vitamines hydrosolubles connues peuvent être dosées dans les engrains de provenance organique. Cette constation nous a conduit à faire des expériences en pleine terre, en ajoutant des engrains organiques et inorganiques et en comparant leur action. Comme plante test, nous avons choisi l'épinard, plante qui pousse difficilement dans la simple solution nutritive de *Knop*. Les résultats obtenus démontrent que l'engrain organique est supérieur à l'engrain minéral pur. Le mélange de l'engrain minéral avec une fraction organique donne le résultat optimal. Dans cette série d'expériences l'arrosage avec de l'eau contenant de la vitamine B<sub>1</sub> synthétique, sans adjonction d'autres engrains, s'est montré efficace et a permis un développement remarquable de l'épinard <sup>3)</sup>.

Dans des expériences récentes, *Schmidt* et *Starkey*, ont démontré <sup>4)</sup> à l'aide du test biologique, que des vitamines additionnées à de la terre stérilisée, disparaissent moins rapidement que si la terre n'est pas stérilisée avant l'expérience. Les organismes du sol utiliseraient donc la vitamine. Ces auteurs ont aussi démontré que dans un modèle de sol, réalisé in vitro, le contenu en riboflavine

du modèle de sol, a son optimum au moment où la respiration du sol, donc l'activité des micro-organismes, est la plus intense.

Par cet exposé nous voulions prouver qu'un problème de physiologie générale, la vitaminologie, peut avoir une répercussion sur les conceptions modernes du sol arable habité par une flore et une faune utiles.

### Littérature

- 1) *W.-H. Schopfer: Plants and Vitamins. Chronica Botanica, Waltham, Mass. USA (1943).*
- 2) *M.-A. Roulet: Recherches sur les vitamines du sol. Experientia IV/4, p. 149 (1948).*
- 3) *M.-A. Roulet: Thèse (1950).*
- 4) *E. L. Schmidt et R. L. Starkey: Soil Sc. Vol. 71, p. 221 et 129 (1951).*

### Diskussion

*Question C. Portner:* Le fort développement des plantes d'épinards traitées par une solution de vitamine B<sub>1</sub> peut-il provenir du fait que cette solution a éventuellement un pH différent de l'eau contenue dans le sol et serait produit par une modification de l'équilibre entre les substances dissoutes et solides ?

*Réponse:* Il peut exister en effet une différence de pH, mais les quantités de solutions de vitamines étant si faibles, elles ne produisent pas une modification du pH du sol.

*Bemerkung L. Gisiger:* Der Referent hat sehr interessante Ergebnisse bekannt gegeben, von denen die «Angewandte» Schlussfolgerungen ziehen kann. Denken wir an den Kreislauf der Wirkstoffe; die Pflanzen nehmen auf und geben zurück. Gross ist der Anfall der Wurzel- und Ernterückstände, aus denen die Mikroben Vorteile schöpfen. Interessant waren die Versuche mit Spinat, die zeigen, dass u.U. höhere Pflanzen für die vorhandenen Wirkstoffe dankbar sind. Wir haben immer Mühe, aus Versuchen mit organischen Stoffen wegen der komplexen Wirkung den Effekt auf einen Faktor zurückzuführen. Bei der Betriebsstruktur unserer Landwirtschaft fallen grosse Mengen Hofdünger (Stallmist und Jauche) an, die im Sinne des erwähnten Spinatversuches mit Handelsdünger vermischt werden können.

*Bemerkung Högl:* Wenn wir an die heutige Entwicklung der Düngung und vor allem der Schädlingsbekämpfung denken, kann man sich des Eindrucks einer starken Störung des Gleichgewichts in der Natur nicht erwehren. Dabei denken wir vor allem auch an den Weinbau.

*Bemerkung Schopfer:* Schopfer weist darauf hin, dass die Agrikultur-Chemie in Zukunft den organischen Stoffen in der Düngung vermehrte Aufmerksamkeit schenken muss. Es sind vor allem Neu- und Ödländereien, denen vermehrt organische Dünger zugeführt werden müssen; dies trifft auch für Böden höherer Lagen zu, wo die Auswaschung gross ist.

Dr. L. Gisiger, Liebefeld-Bern:

## **Untersuchungen über die Bedeutung der Impfung von Leguminosensaatgut**

### **1. Die Bedeutung der biologischen Stickstoffbindung im Stickstoffhaushalt**

Von den Hauptnährstoffen der Pflanzen sind Phosphorsäure und Kali einer statischen Betrachtung sehr gut zugänglich. Der Kreislauf Boden-Pflanze-Hofdünger-Boden kann recht zuverlässig verfolgt werden; im Gegensatz dazu sind statische Betrachtungen für den Stickstoff nur mit grosser Reserve aufzunehmen. Für diesen Nährstoff ergeben sich auf Schritt und Tritt unkontrollierbare Verlust- und Gewinnquellen. Hierfür gegebenen Angaben kann deshalb nur der Wert einer Orientierung zukommen. Es ist klar, je mehr Einzelheiten über den Stickstoff als Nährstoff und sein Verhalten in den Hofdüngern und im Boden bekannt sind, umso höheren Zuverlässigkeitswert erhalten entsprechende Angaben.

Während der Kriegs- und Nachkriegszeit wurden die Erhebungen und Schätzungen des Schweizerischen Bauernsekretariates mit Umsicht ausgebaut, sie geben ein gutes Bild über die landwirtschaftliche Gesamtproduktion; darauf basierend, kann nach Abzug des Ertrages der Alp- und Juraweiden der in der pflanzlichen Produktion ohne Wurzelrückstände enthaltene Stickstoff auf rund 1,5 Millionen Doppelzentner geschätzt werden. Durch Marktprodukte gehen für den Anfall in den Stalldüngern rund 150 000 q Stickstoff verloren. Werden ferner die bei der in der Schweiz üblichen Stalldüngerzubereitung eintretenden Stickstoffverluste auf 10 % veranschlagt, dann kehren aus der inländischen Produktion in Form von Stalldüngern rund 1 200 000 q Stickstoff auf die Felder zurück. Rechnen wir dazu noch rund 100 000 q Stickstoff aus den zugekauften Kraftfuttermitteln und 85 000 q Stickstoff aus den Handelsdüngern, dann würde eine Unterbilanz von etwas mehr als 100 000 q Stickstoff resultieren. Soweit wäre gegen diese Berechnung nichts einzuwenden, und doch haften ihr schwerwiegende «aber» an. So ist bekannt, dass der Stickstoff der Stalldünger im Durchschnitt nur etwa zu  $\frac{2}{3}$  wirksam ist und jährlich beachtliche Mengen Stickstoff in den Untergrund gespült werden. Die Auswaschungsverluste selbst können stark schwanken und sind nebst der Düngung von allen möglichen Kulturmassnahmen abhängig wie Dauer und Art der Bepflanzung, Bearbeitung sowie von den Niederschlägen. So erwähnt *Geering*<sup>2)</sup> Stickstoffverluste von 125—175 kg/ha auf unbeplanztem Boden und nur 16—45 kg auf ständig bepflanztem Boden. In Drainagewasser fanden wir in zwei verschiedenen Proben im Liter 14 und 14,7 mg Salpeter-

stickstoff, woraus sich bei einer Sickerwassermenge von 3 000 000 Litern pro Hektare ein Gesamtverlust von rund 43 kg berechnen lässt. Die Annahme eines mittleren Stickstoffauswaschungsverlustes von 40 kg pro Hektar darf nicht als übertrieben beurteilt werden, sie ergibt aber für den landwirtschaftlich genutzten Boden der Schweiz von 1 168 000 ha einen Verlust von über 450 000 q Stickstoff. Wenn diesen Zahlen auch nicht besonders grosser Zuverlässigkeitswert zukommt, so zeigen sie doch, mit welchen Verlusten gerechnet werden muss; diese erschienen ungeheuer, wenn man daran denken müsste, sie durch Zukauf von Stickstoff in Handelsdüngern zu decken, wofür bei den heutigen Preisverhältnissen ein Aufwand von rund 70 Millionen Franken erforderlich wäre. Glücklicherweise ergeben sich für die Landwirtschaft insofern günstigere Verhältnisse, als bekanntlich das unerschöpfliche Stickstoffreservoir der Luft unter Mitwirkung verschiedener Mikroorganismen der Pflanzenproduktion zugänglich ist.

## 2. Über die Bildung der Leguminosenknöllchen

Obschon man zu Beginn des letzten Jahrhunderts erkannte, dass die im Boden vorhandenen Stickstoffverbindungen biologischer Herkunft sind und der einzige wirkliche Stickstoffvorrat der Erde die atmosphärische Luft ist, überrascht es heute, wie in die Lehre vom Stickstoffhaushalt während vieler Jahrzehnte Widersprüche hineingetragen wurden. Es war vor allem der mit der grössten Sorgfalt ausgeführte Versuch, der die in der Landbauwissenschaft den Leguminosen zugekannte Sonderstellung nicht gelten lassen konnte. Die Auffassung *Thaers* aber, welcher die Leguminosen als Stickstoffmehrer den übrigen Nutzpflanzen als Stickstoffzehrer gegenüberstellte, gewann immer mehr Anhänger. Aufgeklärt wurden die Widersprüche durch *Hellriegel*<sup>4)</sup>. Er wies nach, dass die Leguminosen den gasförmigen Stickstoff auszunützen vermögen, wenn ihre Wurzeln mit Bakterien enthaltenden Knöllchen besetzt sind, ohne diese aber sich im Hinblick auf die Stickstoffversorgung gleich verhalten wie die übrigen grünen Pflanzen. Isoliert wurden die Knöllchenbakterien erstmals von *Beijerink*<sup>1)</sup>, während zu gleicher Zeit *Prazmowsky*<sup>7)</sup> ihre Entwicklungsgeschichte in den äusseren Erscheinungsformen bis in alle Einzelheiten verfolgte. Danach dringen die an und für sich weissen Bakterien nur in junge Wurzeln durch die Wurzelhaare ein und bilden die Knöllchen. Die Bakterien zehren anfänglich unter starker Vermehrung von der Wirtspflanze. In diesem Stadium sind die Mikroorganismen noch von einer Membran eingeschlossen und nicht fähig, Stickstoff zu binden. Sie verändern sich dann unter dem Einfluss der Wirtspflanze in Bakteroiden, die nicht mehr von einer Membran umschlossen sind und sich mit dem plasmatischen Inhalt der Wirtszellen vermengen. Ein Teil der Bakterienschlüche bleibt aber mit normalen Bakterien erhalten. Wie schon angedeutet, zeigen die unveränderten Bakterien in den Schläuchen weisse Farbe, während das eigentliche *leistungsfähige Gewebe* mit den Bakteroiden fleischrote Farbe aufweist. Die *rötliche Farbe* kann man als Kennzeichen für leistungsfähige Knöllchen halten, sie

beruht auf dem Hämoglobingehalt der Zellen <sup>\*)</sup>). Hämoglobin kann weder von den Bakterien noch von den Wirtspflanzen allein gebildet werden, es ist typisches Produkt des Zusammenwirkens von Bakterien und Wirtspflanze. Hämoglobin konnte denn auch bisher im ganzen Pflanzenreich nur in den Bakterienknöllchen gefunden werden. Nach Untersuchungen von *Virtanen* und *Erkama*<sup>11)</sup> bleibt die Hämoglobinbildung aus, wenn Kupfer in der Nährlösung fehlt, ferner hat *Mulder*<sup>6)</sup> nachgewiesen, dass die Stickstoffbindung vom Vorhandensein minimaler Mengen von Molybdän abhängt. Beim Altern der Bakteroiden oder wenn die Wirtspflanze unter ungünstigen Wachstumsbedingungen steht, ändert die rote Farbe nach grün, wobei sich die Bakteroiden auflösen und entleeren. Die Verfärbung der Knöllchen tritt nach *Virtanen* auf Erbsen ein, wenn diese 2—3 Tage dem Licht entzogen werden oder aber ganz allgemein mit Eintritt des Reifeprozesses.

Von besonderem wissenschaftlichem Interesse sind die Forschungen von *Virtanen*<sup>8)</sup><sup>10)</sup> über den Stickstoffaustausch zwischen den Knöllchen und den Leguminosen als Wirtspflanzen, beziehungsweise den mit diesen in Gemeinschaft angebauten Gramineen. Nach älterer Auffassung sollten der Wirtspflanze erst die Abbauprodukte der aus den Bakterien abgebauten Proteine in Form einfacher Verbindungen wie Ammoniak zugute kommen, nach *Virtanen* erhalten aber die Wirtspflanzen fortwährend Stickstoff geliefert, wenn sich in den Knöllchen noch absolut keine Anzeichen von Zersetzung bemerkbar machen. Nach den Versuchsergebnissen zu schliessen erfolgt der Austausch des Stickstoffs zu 90 % direkt in Form von Aminosäuren; dabei ist von besonderem Interesse, dass auch in *steriler Kultur* die mit den Leguminosen zusammen angepflanzten Gramineen von der Stickstoffbindung der Knöllchen profitieren. Jedenfalls konnte *Virtanen* im Nährboden Aminosäuren nachweisen, die aus den Knöllchen stammten und als solche — weil andere Mikroorganismen in der sterilen Kultur fehlten — von den Gramineen aufgenommen werden müssen. Dieser Feststellung kommt neben der rein praktischen insofern wissenschaftliche Bedeutung zu, als damit gezeigt wird, dass auch durch die Wurzeln erhebliche Mengen organischer Verbindungen aufgenommen werden können.

Im Hinblick auf die Ausdauer und Leistungsfähigkeit der Leguminosen sei noch hervorgehoben, dass z.B. Rotklee mit Hilfe der Knöllchenbakterien besser gedeiht als bei reichlicher Stickstoffernährung in «mineralischer» Form als Ammonnitrat (*Virtanen*<sup>9)</sup>). Weiter kann in der Feststellung, dass im Mischanbau von Hafer und Erbsen im Verhältnis von 2 : 1 ausreichende Ernährung und Vollernten gesichert sind, ein Hinweis erkannt werden, wann im Futterbau mit

<sup>\*)</sup> Da die Knöllchenbildung auf jungen Leguminosenpflanzen schon nach 6—10 Tagen eintritt und die rote Farbe als Merkmal für die Leistungsfähigkeit betrachtet werden kann, wäre damit die Möglichkeit gegeben, die im Handel befindlichen Impfkulturen in relativ kurzer Zeit zu kontrollieren. Der Identitätsnachweis allein sollte nach *Vogel* und *Zipfel*<sup>12)</sup> mit Hilfe der Agglutinationsprobe zuverlässig möglich sein, nicht aber nach Ergebnissen amerikanischer Forscher <sup>5)</sup>.

zusätzlicher Stickstoffdüngung eingesetzt werden muss. Unter Berücksichtigung rein ertragsmässiger Belange gilt als Regel, dass die Erträge und Eiweissernten durch zusätzliche Stickstoffdüngung gesteigert werden können, wenn der Kleeanteil weniger als ca. 30 % des Pflanzenbestandes ausmacht (Gisiger<sup>3</sup>).

Für die Praxis ist die Feststellung von Bedeutung, dass es nach den Leguminosenarten spezialisierte Bakterien gibt, was sich durch Kulturversuche und serologische Untersuchungen nachweisen lässt. Schon vor dieser Erkenntnis wusste aber die Praxis um den Vorteil der Verwendung kleefähigen Bodens als Impferde auf Neuland, worüber die Bremener Moorversuchsstation schon 1887 berichtete<sup>13</sup>). Um die Jahrhundertwende waren eine ganze Anzahl verschiedener Impfkulturen im Handel, die später zum grössten Teil verschwunden sind. Als Ursache für den Misserfolg sind weniger die Kulturen zu erwähnen als das Fehlen günstiger Entwicklungsbedingungen für die Bakterien, wie günstige Reaktion und ausreichende Durchlüftung des Bodens. Sowohl die frei- als auch die symbiotisch lebenden stickstoffbindenden Bakterien gedeihen besser im alkalischen als im schwach sauren Boden, ihre Zahl und Leistung nimmt mit zunehmender Azidität rasch ab.

Innerhalb der einzelnen Bakterienspezies gibt es Stämme ganz verschiedener Virulenz und Leistungsfähigkeit, wobei die beiden Eigenschaften gar nicht parallel zu gehen brauchen. Es kann ein Stamm sehr wohl die Fähigkeit zur Knöllchenbildung haben, ohne das Vermögen der Stickstoffbindung zu besitzen. Nach Prazmowsky wäre in diesem Fall die Bakterie der Wirtspflanze überlegen, diese hätte keinen Einfluss auf die eingedrungenen Bakterien, und diese blieben unverändert in den Bakterienschläuchen im Sinne reiner Parasiten vorhanden; es kommt nicht zur Ausbildung von Bakteroiden. Ist eine Pflanze von einem Bakterienstamm infiziert, dann ist sie immun gegen andere Bakterien der gleichen Spezies, sofern diese nicht von höherer Virulenz sind. Eine gewisse Immunität erlangen die Leguminosen auch dann, wenn sie von Anfang an gut mit Stickstoff ernährt werden.

Leider konnten keine besondern Angaben gefunden werden über das Verhalten der verschiedenen Knöllchenbakterien im Boden, wenn derselbe nicht mit Leguminosen bepflanzt wird; es darf aber aus der Tatsache, dass die Bakterien auch aus dem Boden isoliert und gezüchtet werden können, geschlossen werden, dass sie imstande sind, sich im Boden zu halten und zu vermehren. Im folgenden soll auf Grund von Versuchen mit Luzerne gezeigt werden, welche Bedeutung die Impfung des Saatgutes haben kann.

### 3. Versuche über den Erfolg des Impfens von Luzernesaatgut

Während der Jahre 1946—1953 führten wir verschiedene Impfversuche mit Klee und Luzerne durch. Wie zu erwarten war, konnten durch die Kleeimpfung keine Vorteile des Wachstums von Klee erkannt werden, dagegen zeigten sich

solche in den Luzerneversuchen überall da, wo es sich um Boden handelte, der sich wegen ungünstiger, schwach saurer bis saurer Reaktion für den Luzerneanbau nicht gut eignet und der noch nie oder seit Jahren keine Luzerne getragen hatte.

Die Impfversuche wurden so durchgeführt, dass jeweils ein Teil des Saatgutes mit einer Aufschlämmung von Bakterienkulturen aus dem Handel behandelt und im Vergleich zu unbehandelter Saat gesät wurde.

### a) *Einfahrtsacker Liebefeld*

Der Versuch wurde auf einem Feld angelegt, das während Jahrzehnten als Dauerwiese und Weide genutzt wurde und im dritten Jahre der Ackernutzung stand. Der Boden war ein schwach humoser, sandiger Lehm mit pH-Zahlen von 5,9—6,1 in wässriger Aufschlämmung, mit Phosphorsäuretestzahlen 10—18 und 0,8 mg bikarbonatlöslichem Kali je 100 g Boden.

Die Einsaat der Luzerne-Gras-Mischung erfolgte im Frühjahr 1947 in Winterweizen. Wegen der grossen Trockenheit im Sommer hatte die Luzerne nach der Weizenernte Mühe, zu erstarken. Sie zeigte keine Unterschiede in der Entwicklung zwischen ungeimpft und geimpft; solche traten aber im Frühjahr 1948 deutlich in Erscheinung, wie dies einerseits im Anteil der Luzerne am gesamten Pflanzenbestand und anderseits in den in Tabelle 1 folgenden Ertragszahlen zum Ausdruck kommt.

Im ersten Schnitt wurde der folgende Anteil der Luzerne gefunden:

	1948	1949	1950
von den ungeimpften Parzellen	2,5 %	12,5 %	59,5 %
von den geimpften Parzellen	12,5 %	25 %	78 %

Aus diesen Zahlen ist deutlich die starke Begünstigung der Luzerne durch die Impfung zu erkennen und ferner, dass die Luzerne im ersten Nutzungsjahr nicht besonders bestandesbildend ist und sie erst im zweiten und dritten Nutzungsjahr stärkeren Anteil hat, wobei die ungeimpften Parzellen stark aufholten. Es spricht dies auch dafür, dass die Luzerne auf diesen Parzellen gut keimte, sich aber entsprechend dem Mangel an Knöllchenbakterien anfänglich nur schwach entwickelte.

*Tabelle 1*  
*Ertrag an Dürrfutter mit 14 % Wasser in q/ha*

Versuchsjahr	Ungeimpft	Geimpft	Mehrertrag durch Impfung	
			in q/ha	in % von ungeimpft
1948	134,9	168,6	33,7	25,0
1949	145,4	177,9	32,5	22,4
Mittel:	<b>140,2</b>	<b>173,3</b>	<b>33,1</b>	<b>23,6</b>

Im Ertrag ist der Unterschied zwischen ungeimpft und geimpft ebenfalls gut zu erkennen, trotzdem der Boden an und für sich eine beachtliche Stickstoffmobilsation zeigt. Gemessen am Aufwand kann der Impferfolg als sehr gut beurteilt werden, was am deutlichsten im Mehrertrag von 33 q gegenüber ungeimpft mit 140 q/ha zum Ausdruck kommt.

*b) Versuch Birchi-Meikirch*

Der Versuch wurde während einer Trockenperiode am 1. Juli 1950 auf Umbruch einer nicht geratenen Luzerne-Gras-Ansaat angelegt. Der Boden wurde als schwach humoser, sandiger Lehm taxiert mit pH-Werten in wässriger Aufschlämmung von 5,4—5,7, mit Phosphorsäuretestzahl 2 und Kaliwerten von 1,7—5,6 mg K<sub>2</sub>O je 100 g. Der Boden war somit schwach kalk- und phosphorsäurebedürftig. Als einmalige Düngung wurden gegeben 120 kg Phosphorsäure in Dicalciumphosphat (Fertiphos), 15 kg Stickstoff (als Starter) in Form von Ammonsalpeter, 180 kg Kali in 40%igem Kalisalz und 1500 kg Kalk (CaO) in Form von kohlensaurem Dünkgalk. Die Düngungsverfahren können aus der Tabelle 2 ersehen werden, die zugleich die mittleren Erträge der einzelnen Jahre bzw. aller 3 Jahre enthält und ferner Auskunft über die Mehrerträge durch die Impfung gibt.

*Tabelle 2  
Erträge an Dürrfutter mit 14 % Wasser in q/ha*

Düngung	Ungeimpft				Geimpft				Mehrerträge geimpft gegenüber ungeimpft in % v. in q/ha	
	1951 3 Schnitte	1952 2 Schnitte	1953 1 Schnitt	Mittel von 3 Jahren	1951 3 Schnitte	1952 2 Schnitte	1953 1 Schnitt	Mittel von 3 Jahren		
N	114,7	86,5	59,3	86,8	117,7	100,0	59,8	92,5	5,7	6,6
NK	113,7	91,4	61,9	89,0	122,6	105,1	66,5	98,1	9,1	10,2
PN	117,4	96,3	58,1	90,6	129,8	108,4	67,4	101,9	11,3	12,5
PNK	113,0	91,6	65,1	89,9	125,8	105,8	71,2	100,9	11,0	12,2
PNKCa	124,4	112,3	67,2	101,3	137,0	121,4	70,0	109,5	8,2	8,1

Ohne auf Einzelheiten des Versuchsprotokolls einzutreten, sei auf folgendes hingewiesen:

1. Während der ersten Entwicklung der Luzerne schien diese in den Parzellen mit Kalidüngung leicht benachteiligt zu sein, erklärbar durch Bildung von Austauschsäure einerseits und erhöhte Salzkonzentration im Boden anderseits.
2. Während der späteren Entwicklung war die Luzerne auf allen Parzellen gleichmässig vertreten, sie zeigte aber ungleiche Üppigkeit. Deutlich war der günstige Einfluss der Kalkdüngung zu erkennen.
3. Bei höherer Üppigkeit der geimpften Parzellen zeigten diese das gleiche Verhalten gegenüber der Düngung wie die ungeimpften.

4. Allgemein darf das Wachstum der *Luzerne* als befriedigend bezeichnet werden, sie konnte einerseits durch die Impfung und vor allem auch durch die Kalkung wesentlich gefördert werden. Es mag die allgemein gute Entwicklung der Luzerne damit zusammenhängen, dass im Jahr zuvor schon Luzerne angesät worden war und damit die Vermehrung der Luzerneknöllchenbakterien ermöglicht wurde.

*Tabelle 3*  
*Anteil der Luzerne in % des Bestandes*

Düngung bei Anlage	Behandlung der Saat	1951 1. u. 2. Schn.	1952 1. u. 2. Schn.	1953 1. Schn.	Mittel der 3 Jahre	pH des Bodens nach Abschluss des Versuches
N	ungeimpft	26	42	44	37	6,0
	geimpft	35	49	48	44	
NK	ungeimpft	22	48	36	35	5,8
	geimpft	33	50	52	45	
PN	ungeimpft	35	46	33	38	5,9
	geimpft	41	49	44	45	
PNK	ungeimpft	30	40	41	37	5,9
	geimpft	39	52	40	44	
PNKCa	ungeimpft	28	54	56	46	6,6
	geimpft	42	61	64	56	

Der Luzerneanteil konnte aber in allen Düngungsverfahren durch die Impfung begünstigt werden; der Anteil nahm entsprechend der Entwicklung der Luzerne im Verlaufe der drei Nutzungsjahre zu, er war auf den geimpften Parzellen im Durchschnitt um  $1/5$ — $1/4$  höher als auf den ungeimpften Parzellen.

Auf dem übrigen Feld ergaben sich hinsichtlich der Luzerne der Einsaat 1949 und in Abhängigkeit vom pH-Wert folgende Verhältnisse:

Entwicklung der Luzerne:

unbefriedigend	pH-Zahl des Bodens	5,7
befriedigend	pH-Zahl des Bodens	6,0
gut	pH-Zahl des Bodens	6,3

*c) Versuch Schlatt-Wolfwil*

Kennzahlen des Bodens:

schwach humoser, sandiger Lehm, Humus	2,8 %
pH-Zahlen in wässriger Aufschlämmung	5,9—6,1
pH-Zahlen in KCl-Aufschlämmung	5,0—5,2
Phosphorsäuretestzahlen	Spur
laktatlösliche Phosphorsäure	2 mg% <sup>0/0</sup>
Kali, bikarbonatlöslich	0,8—1,6 mg% <sup>0/0</sup>

Der Versuch wurde einerseits als Düngungsversuch und anderseits zum Vergleich von Knöllchenkulturen französischer, englischer und schwedischer Herkunft angelegt. Die Düngungsverfahren sind aus den Tabellen 4 und 5 zu ersehen. Angewendet wurden:

- 120 kg/ha Phosphorsäure in Form von Thomasmehl
- 180 kg/ha Kali in Form von 40%igem Kalisalz
- 1000 kg/ha Kalk (CaO) in Form von kohlensaurem Düngkalk
- 20 kg/ha Borax

Die Anlage des Versuchs erfolgte am 6. April 1949. Die Luzerne-Gras-Mischung wurde in Hafer eingesät, welcher wegen der Trockenheit bis zur Reife stehen blieb.

Schon am 6. Juni liess die Kontrolle den Einfluss der Saatgutimpfung an der Entwicklung der Luzerne deutlich erkennen. Die geimpfte Luzerne war nicht besser gekeimt, aber länger und grüner als die ungeimpfte. Wegen der grossen Trockenheit wurde 1949 auf eine gewichtsmässige Ertragsermittlung verzichtet.

*Tabelle 4*  
*Bonitierung der Luzerne am 23. Juli 1949*

Düngung	Ungeimpft	Geimpft		
		Stamm: französisch	englisch	schwedisch
PK	2	2,5	4,5	5
PKCa	2	3,3	5	5
PK-B	2	3,3	4,5	5
PKCa-B	2	3	4	5
im Mittel:	2	3,0	4,5	5

Im folgenden Frühjahr ergab die Bonitierung nur geringfügige Veränderungen; diese traten im Verlaufe des Sommers stärker in Erscheinung, indem die Luzerne auf allen ungeimpften und den mit französischem Stamm geimpften Parzellen sehr stark zurückging; etwas geringer war der Rückgang auf den mit Knöllchenbakterien englischer Herkunft geimpften Parzellen und noch geringer auf jenen mit schwedischen Bakterienkulturen, wo die Luzerne auch während der beiden folgenden Jahre als schöner Bestand erhalten blieb. Über die Erträge des Jahres 1950 orientiert die folgende Tabelle 5.

*Tabelle 5*  
*Erträge an Dürrfutter in q/ha mit 14 % Wasser*

Düngung	Ungeimpft	Geimpft		
		Stamm: französisch	englisch	schwedisch
PK	69,1	86,0	81,4	96,7
PKCa	77,6	93,5	97,2	108,8
PK-B	72,3	79,5	74,9	98,6
PKCa-B	78,4	91,2	104,2	97,2

Der Versuch zeigt folgendes:

1. Die verschiedenen Düngungsverfahren waren auf dem schwach sauren, phosphorsäure- und kaliarmen Boden ohne nennenswerten Einfluss auf die Entwicklung der Luzerne der ungeimpften Parzellen; die Erträge wurden durch die Kalkung begünstigt.
2. Die Impfung des Luzernesaatgutes mit Knöllchenbakterien wirkte sich sehr vorteilhaft auf die Jugendentwicklung der Luzerne aus, wobei sich nach der Wirkung für die verschiedenen Bakterienstämme die folgende Reihenfolge ergab: französische < englische < schwedische.
3. Auf den Parzellen mit ungeimpftem und mit französischen und englischen Bakterienstämmen geimpftem Samen ging die Luzerne im Verlaufe des zweiten Sommers und des folgenden Winters stark zurück, während sich die mit schwedischen Bakterien geimpfte Luzerne gut hielt. (Leider war es uns bei diesem rein praktische Ziele verfolgenden Versuch nicht möglich, die Ursache der ungleichen Wirkung der verschiedenen Bakterienstämme abzuklären.)
4. Die Ertragszahlen bestätigen die auf dem Felde gemachten Beobachtungen und lassen den Vorteil der Luzernesaatgimpfung für den Versuchsboden, der vorher nie Luzerne trug, erkennen; sie enthalten aber zugleich einen Hinweis auf die Bedeutung ausreichender Kalkversorgung für das Gedeihen der Luzerne, während eine zusätzliche Bordüngung ohne Einfluss war.

#### *Zusammenfassung*

Einleitend wird anhand statischer Betrachtungen gezeigt, welche wirtschaftliche Bedeutung der biologischen Stickstoffbindung im schweizerischen Pflanzenbau zukommt. Hierauf werden einige Angaben über die Bildung und Entwicklung der Leguminosennöllchen gemacht mit Hinweisen auf den direkten Stickstoffaustausch zwischen Knöllchen und Wirtspflanze sowie auf die Spezialisierung der Bakterien nach Leguminosarten. Auf Grund der angeführten Impfversuche darf in der Schweiz von der Impfung des Kleesaatgutes nur in Ausnahmefällen ein Vorteil erwartet werden, dagegen ergaben sich in den drei angeführten Versuchen durch Impfung des Luzernesaatgutes recht günstige

Ergebnisse für die Entwicklung der Luzerne, so dass Mehrerträge von 10—30 % gegenüber ungeimpfter Saat eintraten. In einem Versuch wurden Bakterienstämme französischer, englischer und schwedischer Herkunft vergleichend geprüft mit dem Ergebnis, dass sich diese in der angeführten Reihenfolge von zunehmender Wirksamkeit erwiesen.

## Literatur

- 1) *M. W. Beijerink*: Bot. C. Blatt **46**, 725, 741, 757, 781, 797 (1888).
- 2) *J. Geering*: Lysimeterversuche. Ldw. Jb. der Schweiz **57**, 107 (1943).
- 3) *L. Gisiger*: Gegenwartsfragen der Düngung im Futterbau. Nr. 15 der Mitteilungen der Arbeitsgemeinschaft zur Förderung des Futterbaus.
- 4) *H. Hellriegel*: Referat in Ldw. Versuchsstationen **33**, 464 (1887).
- 5) *F. Löhnis*: Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie Bd. 2, S. 385 (Gebr. Bornträger, Berlin 1935).
- 6) *E. G. Mulder*: Importance of molybdenum in the nitrogen metabolism of micro-organisms and higher plants. Plant and Soil **1**, 95 (1948).
- 7) *A. Prazmowsky*: Die Wurzelknöllchen der Erbse. Ldw. Versuchsstationen **37**, 161 (1890).
- 8) *A. J. Virtanen, S. Hansen* und *H. Karström*: Die Ausnützung der aus den Wurzelknöllchen der Leguminosen herausdiffundierten Stickstoffverbindungen durch Nicht-Leguminosen. Bioch. Zeitschrift **258**, 106 (1933).
- 9) *A. J. Virtanen*: Atmosphärischer Stickstoff als Aufrechterhalter des Lebens auf der Erde. Angew. Chemie **65**, 1 (1953).
- 10) *A. J. Virtanen*: Über die Einwirkung der Bodenazidität auf das Wachstum und die Zusammensetzung der Leguminosenpflanze. Bioch. Zeitschrift **193**, 300 (1928).
- 11) *A. J. Virtanen* und *Erkama*: Zitiert nach 9.
- 12) *J. Vogel* und *Zipfel*: Beiträge zur Frage der Verwandtschaftsverhältnisse der Leguminosknöllchenbakterien und deren Artbestimmung mittels serologischer Untersuchungsmethoden. Zentralblatt für Bakt. 2. Abteilung **54**, 13 (1921).
- 13) *S. Waksman*: Der gegenwärtige Stand der Bodenmikrobiologie S. 108 (Urban und Schwarzenbach, Berlin 1930).

## Diskussion

*Frage Hoffmann*: Gibt es nebst den symbiotisch lebenden nicht auch frei lebende stickstoffbindende Bakterien?

*Antwort*: Solche Kulturen wurden schon vor dem Krieg und dann vor allem während des Krieges offeriert. Die Prüfung ergab keine positiven Ergebnisse.

*Frage Schopfer*: Handelt es sich bei den im Handel befindlichen Kulturen um verschiedene Stämme?

*Antwort*: Leider war es bei diesen mehr auf praktische Fragen gerichteten Versuchen nicht möglich, die Stämme zu identifizieren, was serologisch sehr wohl möglich wäre. Alle Kulturen führten zu Knöllchenbildung, nicht alle waren gleich wirksam. Mit Erde von einem Luzernefeld von Liebefeld wurden sehr gute Resultate erzielt.

*Frage Roulet*: Wurde für alle Versuche gleiches Saatgut verwendet?

*Antwort*: Ja.

Dr. H. Lüthi, Wädenswil:

## Über die Alkoholresistenz der Konidien von *Penicillium expansum*

Die Beschäftigung mit den Problemen der häuslichen und bäuerlichen Süßmosterei gaben mir Anlass zu den Versuchen, über welche ich Ihnen kurz zusammenfassend berichten möchte. Seit der Einführung von Grossgefäßen mit Anstichmöglichkeit kämpft die Praxis ständig gegen die lästige Verschimmelung der Fruchtsäfte.

Wir haben uns an der Eidg. Versuchsanstalt Wädenswil mit der systematischen Abklärung dieser Verpilzung und mit ihrer Bekämpfung zu befassen gehabt. In diesem Zusammenhang untersuchten wir auch die Wirksamkeit der durch die Süßmoster allgemein angewendeten Desinfektionsmittel. Neben der schwefligen Säure war dies vor allem der 70%ige Alkohol (Äthylalkohol).

Als Testobjekte dienten zunächst nicht näher bestimmte und bekannte Schimmelpilze, welche wir auf Süßmosten vorfanden. Im Verlaufe der Arbeit stiessen wir auf den Pilz *Penicillium tardum* \*). Seine Konidien zeigten schon in den ersten Versuchen eine erstaunliche Resistenz gegenüber 70%igem Alkohol.

Der Äthylalkohol ist als Desinfektionsmittel seit dem Altertum bekannt. Seine Wirksamkeit ist im Verlaufe der Zeit immer wieder umstritten worden. Daran mag zu einem guten Teil die Anwendung voneinander abweichender Versuchsmethoden schuld sein. Der Alkohol besitzt, so wenig wie alle andern Desinfektionsmittel, keine umfassende Wirkung. Seine eigentliche Domäne ist bis heute die *chirurgische Desinfektion* geblieben. Dort weist er unbestrittene Vorzüge auf, vor allem auf dem Gebiete der Hände- und Hautdesinfektion. Er wird, wenn auch mit bestimmten Einschränkungen, heute noch zur Behandlung von Instrumenten, Injektionsspritzen usw. herbeigezogen.

Über die Eignung des Alkohols als Desinfektionsmittel existiert vor allem auf medizinisch-bakteriologischem Gebiete eine sehr ausgedehnte Literatur <sup>1)</sup>. In bezug auf seine Wirksamkeit gegenüber den vegetativen und Dauerformen der Bakterien gehen aus ihr folgende wichtigsten Tatsachen hervor:

1. Der Alkohol hat als Desinfektionsmittel ungewöhnliche Fähigkeiten. Zu seiner bakteriziden Wirkung braucht er aber unbedingt *das Wasser*. Wasserfreier Alkohol ist gegenüber trockenem Bakterienmaterial völlig unwirksam.
2. Gegenüber *wässerigen Bakterienaufschwemmungen* übt aber schon 20%iger Alkohol eine bakterizide Wirkung aus. Diese nimmt mit zunehmender Konzentration zu und ist für wasserfreien Alkohol am grössten.
3. Gegenüber *trockenem Bakterienmaterial* besitzt 50—70%iger Alkohol die grösste bakterizide Wirkung. Geringere und höhere Konzentrationen zeigen abnehmende Wirksamkeit.

\*) Die Bestimmung wurde durch das Institut voor Schimmelcultures in Baarn (Holland) vorgenommen.

4. Alkohol in allen Konzentrationen ist gegenüber *Bakteriensporen* praktisch *unwirksam*. Sie können sich nachgewiesenermassen Jahrzehntelang darin am Leben erhalten. Käuflicher Alkohol enthält in den meisten Fällen Bakteriensporen, darunter oft stark pathogene.
5. Die keimtötende Kraft des Alkohols wird seinem leichten Eindringungsvermögen und vor allem seiner *eiweissfällenden Wirkung* zugeschrieben. Sie erreicht ihr Maximum im Konzentrationsbereich zwischen 60 und 80 Vol.%. Dieser deckt sich also mit dem Bereich der grössten Wirksamkeit des Alkohols auf trockenes Bakterienmaterial.
6. Die *Unwirksamkeit* sämtlicher Konzentrationen gegenüber *Bakteriensporen* wird mit deren schlechter Quellbarkeit und mit ihrem Mangel an Mineralsalzen, welche die Eiweissfällung unterstützen, in Zusammenhang gebracht.

Über die Einwirkung von Alkohol auf *Pilzsporen* ist wenig Literatur vorhanden. Von medizinischer Seite ist seinerzeit die Alkoholresistenz verschiedener menschenpathogener *Aspergillusarten* untersucht worden<sup>2)</sup>. Aus diesen Versuchen geht eindeutig hervor, dass Alkoholkonzentrationen unterhalb 50 % rasch unwirksam werden. Hingegen wurde festgestellt, dass die sporozyde Wirkung nach oben bis zum wasserfreien Alkohol rasch zunimmt. Die Sporen der meisten geprüften Arten sterben in 96%igem bzw. wasserfreiem Alkohol schon nach einer Behandlung von 2 Minuten ab. Dies zeigt, dass Schimmelpilzsporen sich also gegenüber Alkohol prinzipiell anders verhalten als Bakteriensporen.

Über die Resistenz der Konidien von *Penicillium tardum* sind mir aus der Literatur keine Angaben bekannt geworden. Bereits die ersten Tastversuche ergaben für den 70%igen Alkohol eine Widerstandsfähigkeit der Konidien, welche seine weitere Verwendung als Desinfektionsmittel für die Zukunft in Frage stellten. Interessanterweise führten spätere mehrfache Nachprüfungen dieser Ergebnisse zu stark voneinander abweichenden Resultaten. Sie legten den Gedanken nahe, das verschiedene Alter der verwendeten Konidien könnte dafür verantwortlich gemacht werden. Diese Verhältnisse liessen sich mit den folgenden Versuchen abklären.

### Methodik

Auf einem geeigneten, natürlichen Nährmedium (Fruchtsaft) wurde eine für längere Versuche genügende Konidienmenge herangezogen. Die Kultur konnte während mehr als zwei Jahren bei konstanter Temperatur von 20° C unter Watteverschluss aufbewahrt werden. Sie lieferte das einheitliche Ausgangsmaterial für sämtliche Versuche.

Zur Prüfung der Resistenz wählten wir die *Keimträgermethode*. An aufgerauhten *Seidenfäden* von ca. 2 cm Länge liessen sich die Konidien leicht fixieren. Zu diesem Zwecke wurde die nötige Menge in sehr wenig sterilem, destilliertem Wasser aufgeschwemmt und die sterilen Seidenfäden damit getränkt. So konnten diese gleichmässig mit dem Testmaterial befrachtet und nach einer Trocknungszeit von 24 Stunden bei 36° C zu Versuchen herbeigezogen werden.

Ausser dem 70%igen wurde auch der 80, 90 und 96 (Vol.)%ige reine Äthylalkohol verwendet. Die Resistenzprüfung der Konidien erfolgte durch Eintauchen der Seidenfäden in den betreffenden Alkohol. Nach der Exponierung verbrachten wir jeweils zwei der vier für jeden Versuch verwendeten Fäden in 30 ml eines verdünnten, sterilen Traubensaftes, also in ein Nährmedium, welches sich für die Auskeimung und das Wachstum der Pilzkonidien besonders gut eignet. Die tägliche Kontrolle des Versuches erstreckte sich über drei Wochen. Während dieser Zeit wurde die Verzögerung der Auskeimung beobachtet.

### Die Versuchsergebnisse

#### a) Zusammenhang zwischen Alter und Alkoholresistenz der Pilzkonidien

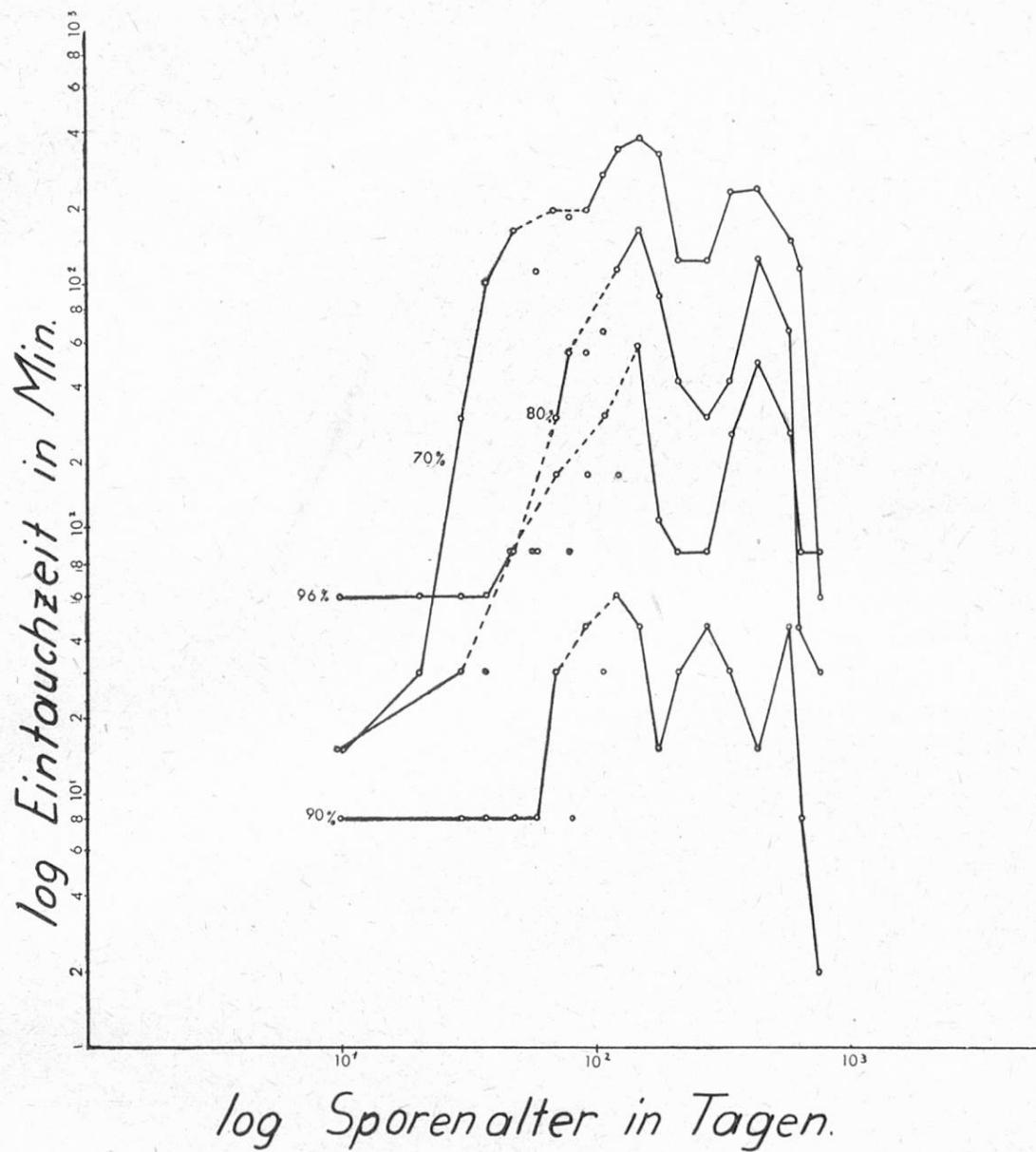
Die insgesamt 92 Versuche verteilen sich auf eine Zeit von rund 800 Tagen. Sie zeigen, dass die Eintauchzeit, welche zur sicheren Abtötung sämtlicher Konidien nötig ist, sehr stark vom Alter abhängt. Sie änderte sich z.B. für den 70%igen Alkohol im Verlaufe der Versuchszeit im Verhältnis von 1 : 945, was beweist, dass man ohne Berücksichtigung des Sporenlagers zu falschen und sich widersprechenden Schlüssen über die Alkoholresistenz der Pilzkonidien kommen müsste.

In der graphischen Darstellung der Fig. 1 sind die Ergebnisse aus allen Versuchen für die geprüfte Alkoholkonzentration zusammengestellt worden. In allen Fällen lässt sich mit zunehmendem Konidienalter eine auffallende Veränderung der Alkoholresistenz feststellen. Für jede Alkoholkonzentration bilden sich interessanterweise zwei Resistenzmaxima heraus, die wir nicht erklären können.

In der Tabelle I sind die Extremwerte der zur restlosen Abtötung aller Konidien führenden Eintauchzeiten für die geprüfte Alkoholkonzentration zusammengestellt. Die Werte vermitteln gleichzeitig ein Bild über deren sporozide Wirkung.

Tabelle 1

Konidienalter in Tagen	Extremwerte der zur Abtötung nötigen Eintauchzeit in den geprüften Alkoholkonzentrationen			
	70 %	80 %	90 %	96 %
10	15 Min.	15 Min.	8 Min.	60 Min.
150	3780 Min.	1620 Min.	45 Min.	450 Min.
215	1260 Min.	420 Min.	30 Min.	90 Min.
438	2460 Min.	1260 Min.	60 Min.	1500 Min.
870	4 Min.	90 Min.	8 Min.	300 Min.



Figur 1

Abhängigkeit der zur Abtötung nötigen *Eintauchzeit* in die verschiedenen Alkoholkonzentrationen vom *Alter* der Konidien

*b) Die sporozide Wirkung der geprüften Alkoholkonzentrationen*

Die Angaben über den Einfluss des Alters auf die Resistenz haben bereits gezeigt, dass der 70%ige Alkohol für Pilzkonidien eines gewissen Alters praktisch wirkungslos ist.

In allen Versuchen erweist sich der 90%ige Alkohol den andern in seiner sporoziden Wirkung eindeutig überlegen. Setzt man diese zur Zeit der maximalen Resistenz der Konidien gleich 1, so ergibt sich für die übrigen Konzentrationen das folgende Verhältnis 1 : 41 (70 %) : 21 (80 %) : 25 (96 %). Diese spezifische

Wirkung des 90%igen Alkohols ist auffallend. Wir haben dafür leider keine Erklärung finden können.

Bereits *Lode*<sup>2)</sup> stellte die zunehmend bakterizide Wirkung höherer Alkoholkonzentrationen auf Aspergillussporen fest. Er suchte sie durch ihr besseres Lösungsvermögen «hinsichtlich gewisser in Wasser und wässerigen Lösungen unlöslicher, das Protoplasma schützender Substanzen» zu erklären. Diesen Schluss zog er auch aus seiner Beobachtung, dass die zur Behandlung seiner Sporen verwendeten Alkohole sich braunschwarz verfärbten und also gewisse, nicht näher bestimmte Substanzen aus dem Sporenmaterial zu lösen vermochten. Nach seinen Versuchen besitzt *Xylol* die gleiche lösende Eigenschaft, jedoch keine sporozide Wirkung.

Durch Entfernung dieser «plasmaschützenden Hülle» müssten also die Pilzkonidien gegenüber Alkohol wesentlich empfindlicher werden. Wir versuchten diese Annahme mit *Xylol* bzw. *Dioxan* nachzuprüfen. An den Rückständen, welche wir in diesen Lösungsmitteln nach einer Behandlungszeit von 30 Minuten (*Xylol*) und 60 Minuten (*Dioxan*) feststellen konnten, musste tatsächlich aus den Konidien etwas herausgelöst worden sein. Die Tatsache, dass so vorbehandelte Konidien gleichzeitig mit nichtbehandelten auskeimten, lässt auf die Unschädlichkeit dieser Lösungsmittel schliessen.

Ein anschliessendes Eintauchen solcher Konidien in Alkohol ergab tatsächlich, wenigstens für die höheren Konzentrationen, eine wesentliche Herabsetzung der Resistenz.

*Tabelle 2*

Vorbehandlung	Zur Abtötung nötige Eintauchzeit in Minuten (Alter der Konidien: 600 Tage)			
	70 %	80 %	90 %	96 %
Keine	1380	180	30	180
30 Min. in <i>Xylol</i>	1380	180	8	180
60 Min. in <i>Dioxan</i>	1380	180	4	90

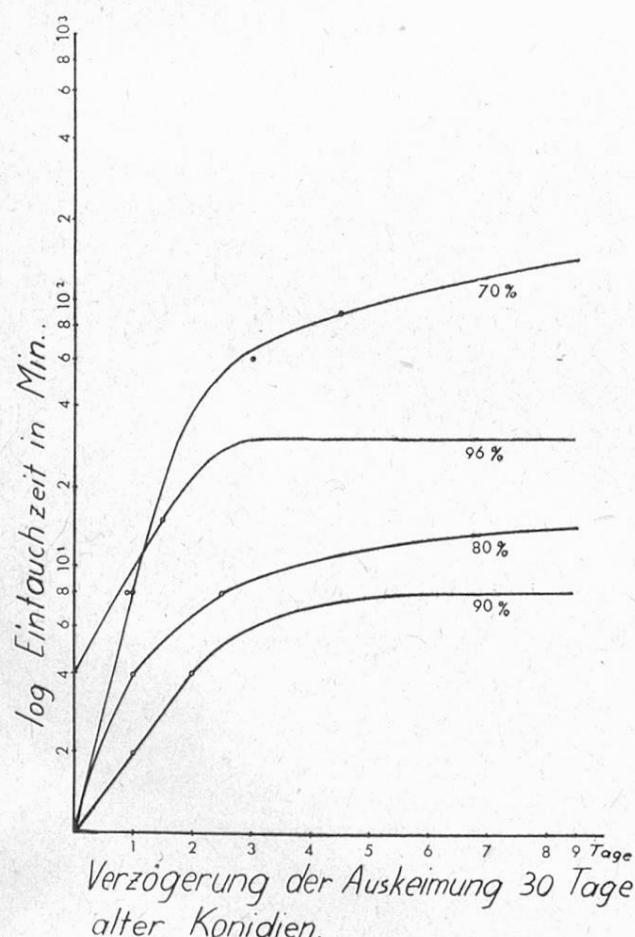
Diese Versuche scheinen die Existenz der schon von *Lode* l. c. und *Cramer*<sup>3)</sup> feststellten «plasmaschützenden», wachsartigen Schicht der Pilzkonidien erneut zu beweisen.

Die typische Wirkungsweise der geprüften Alkoholkonzentrationen lässt sich auch durch ihren verzögernden Einfluss auf die Auskeimung der Konidien charakterisieren. Je geringer die Giftwirkung, desto grösser die Wahrscheinlichkeit, dass sich einzelne Konidien im Verlaufe der Beobachtungszeit erholen und auszukeimen vermögen. Die im Bereich der letalen Eintauchzeiten an insgesamt 92 Versuchen beobachtete durchschnittliche maximale Verzögerung der Auskeimung ist für jede Alkoholkonzentration typisch (siehe Tabelle 3).

Tabelle 3

Alkohol	Maximale Verzögerung der Auskeimung
70 %	11,8 Tage
80 %	10,8 Tage
90 %	5,5 Tage
96 %	2,8 Tage

Aus diesen Zahlen könnte geschlossen werden, der 96%ige Alkohol besitze die grösste sporozide Wirkung, weil schon drei Tage nach der Behandlung keine Wahrscheinlichkeit mehr besteht, dass sich eine Konidie wieder erholen kann. Die graphische Darstellung dieser Verhältnisse in Figur 2 zeigt aber deutlich, dass der 96%ige Alkohol nicht die grösste sporozide Wirkung, wohl aber eine ganz besondere Charakteristik darin aufweist. Er scheint zunächst gar keine schädigende Wirkung auf die Konidien auszuüben, was daran zu erkennen ist, dass diese gegenüber den unbehandelten Kontrollen in der Auskeimung keine Verzögerung erleiden. Offensichtlich findet der 96%ige Alkohol anfänglich keinen Zutritt zum Plasma der Konidien. Sobald er dieses aber (vermutlich nach Auflösung einer das Plasma schützenden Schicht) erreicht, ist die Schädigung so stark, dass sie nach kurzer Zeit zum Absterben der Konidien führt.



Figur 2

Charakteristische Wirkung der verschiedenen Alkoholkonzentrationen, dargestellt an der Verzögerung der Auskeimung dreissig Tage alter Konidien nach bestimmten Eintauchzeiten.

Wie die Kurven der Figur 2 deutlich zeigen, üben der 70, 80 und 90%ige Alkohol bereits nach kürzester Eintauchzeit einen schädigenden, die Keimung verzögernden Einfluss auf die Konidien aus, wobei der 90%ige Alkohol mit Abstand die kräftigste sporozyde Wirkung aufweist.

Es wäre interessant, näher abzuklären, weshalb der 96%ige Alkohol anfänglich ganz ohne Wirkung ist. Sein geringer Wassergehalt erschwert ihm wohl die Auflösung der schützenden Hülle und damit den raschen Zutritt zum Plasma. Hat er dieses einmal erreicht, so scheint er von noch kräftigerer Wirkung zu sein als der 90%ige Alkohol.

### c) Das Verhalten anderer *Penicillium*-arten

Es war für uns von Interesse, abzuklären, ob ausser *Penicillium tardum* noch andere verwandte Arten eine so ausgesprochene Alkoholresistenz der Konidien aufweisen. Wir prüften darum noch drei andere, in einem Obstlagerkeller zufällig vorhandene Pencillien. Einer der Stämme wurde bis zu einem Konidienalter von 77 Tagen mehrfach geprüft. An dessen Konidien konnte beobachtet werden, dass ihre Resistenz gegenüber 70—90%igem Alkohol in dieser Zeit praktisch nicht zunahm. Für den 96%igen Alkohol erhöhte sie sich aber auf das 5fache. Darüber hinaus bestätigen diese Kontrollversuche an andern Arten das charakteristische Verhalten der verschiedenen Alkoholkonzentrationen gegenüber den Pilzkonidien, ebenso den Einfluss des Alters auf deren Resistenz.

### Zusammenfassung

Mit Hilfe der Keimträgermethode (Seidenfäden) wurde die Resistenz der Konidien von *Penicillium tardum* gegenüber 70—96 vol.%igen Lösungen von Äthylalkohol geprüft. Es zeigt sich, dass sie für diese Konzentrationen mit dem Alter der Konidien in weiten Grenzen schwankt. Der 90%ige Alkohol weist in allen Versuchen die grösste sporozyde Wirkung auf. Mit Xylol bzw. Dioxan vorbehandelte Konidien zeigen gegenüber 90 und 96%igem Alkohol deutlich verminderte Resistenz, was beweist, dass mit diesen Lösungsmitteln eine plasmaschützende (wachsartige) Schicht der Konidien entfernt wird.

Weitere orientierende Versuche mit nicht näher bestimmten andern *Penicillium*-arten bestätigen die an *Penicillium tardum* gewonnenen Ergebnisse und beweisen die geringe Wirksamkeit des Alkohols gegenüber Pilzkonidien.

Diese Arbeit bestätigt, dass ein grosser Teil der Pilzinfektionen in der häuslichen und bürgerlichen Süssmosterei auf das Ungenügen des verwendeten Alkohols zurückgeführt werden muss. Aus diesen Gründen ist der Alkohol als traditionelles Desinfektionsmittel der Praxis abzulehnen.

### Literatur

- 1) *G. Sobernheim*: Alkohol als Desinfektionsmittel. Supplementlieferung zur Alkoholfrage in der Schweiz. Verlag Benno Schwabe, Basel 1944.
- 2) *A. Lode*: Studien über die Absterbebedingungen der Sporen einiger *Aspergillus*-arten. Arch. für Hygiene 42, 107—152 (1902).

- <sup>3)</sup> *E. Cramer*: Die Zusammensetzung der Sporen von *Penicillium glaucum* und ihre Beziehung zu der Widerstandsfähigkeit derselben gegen äussere Einflüsse. Arch. für Hygiene **20**, 197 (1894).

Keine Diskussion.

Dr *E. Novel* et Dr *E. Pongratz*, Genève:

## **Trois ans d'analyses bactériologiques de lait maternel**

### *Introduction*

Bien des pays possèdent, depuis nombre d'années déjà, des centres collecteurs et distributeurs de lait maternel. Le premier de ces lactariums fut créé, en 1910, à Boston. En Amérique du Nord, il existe actuellement près d'une trentaine de centres (E.U. Canada) et en Amérique du Sud, on peut citer ceux des Buenos-Ayres, Montevideo, Santiago de Chili.

En Europe, la «première banque du lait» fut celle de Magdebourg (1919) et il n'y a pas moins, en Allemagne, de 15 centres. On en trouve maintenant à Paris, Moscou, Bratislava, Helsinki.

Le seul lactarium qui existe actuellement en Suisse est celui de Genève. Il ne fut d'ailleurs créé que tout récemment en 1950. Il permet de fournir du lait de femme aux prématurés, aux nourrissons malades ou qui ne tolèrent pas les laits diététiques et se charge de le faire parvenir immédiatement, sur simple appel téléphonique, en n'importe quelle ville ou village de notre pays.

\*

Les centres collecteurs de laits maternels sont basés sur le principe de l'internat et de l'externat. Dans le premier cas — et Paris en est le seul exemple — les donneuses restent à demeure au centre même, où on leur assure la pension complète ainsi que celle de leur enfant.

Mais ce système restreint très considérablement le nombre de donneuses et entraîne des obligations financières onéreuses. Dans le second cas, l'externat, la traite se fait soit au centre — comme à Buenos-Ayres où les femmes se rendent au lactarium deux fois par jour — soit à domicile, ce qui permet une extraction six fois par jour et d'avoir toujours à disposition un nombre élevé de donneuses.

A Genève, c'est le principe de l'externat qui a été adopté et le lait des jeunes mères est récolté à domicile.

### *L'analyse bactériologique des laits maternels*

Nous procédons systématiquement à l'examen bactériologique quantitatif et qualitatif du lait de chaque donneuse. Ainsi nous pouvons connaître la contamination bactérienne de chacun des laits, déterminer ceux de ces laits maternels

qui peuvent être consommés sans stérilisation préalable, ceux qui peuvent être stockés directement ou après stérilisation. En effet, la demande n'égale pas toujours l'offre ou, au contraire, à certaines périodes, il n'y a pas assez de donneuses pour suffire à la demande. Il convient donc de posséder une certaine réserve de lait maternel, de le conserver pour faire face à toute éventualité. Les moyens préconisés pour la conservation du lait sont nombreux et bien connus. Je ne les rappelle que pour mémoire:

- a) la stérilisation à  $103^0$  pendant 5' (*Langevin* <sup>1</sup>));
- b) la tyndallisation;
- c) la congélation à  $-20^0$ , méthode utilisée à New York dès 1932 <sup>2</sup>).

Or, pour pouvoir conserver le lait par congélation (*Martin du Pan, Novel et Roux* <sup>3</sup>), comme nous le faisons à Genève, sans le stériliser préalablement, il faut qu'il n'ait qu'une teneur extrêmement faible en germes. Et c'est bien là, à notre avis, la difficulté majeure. L'on a coutume de dire — et on le répète de traité à traité — que le lait, qu'il soit d'origine animale ou humaine, est normalement stérile, si la mamelle ou le sein ne présente aucune lésion quelconque. Or, ce n'est que partiellement vrai. En effet, le lait renferme toujours un nombre plus ou moins important de microbes qui ont trouvé dans les sinus galactophores et les principaux canaux du sein des conditions favorables à leur multiplication.

C'est d'ailleurs pour cette raison que l'on recommande, lors de la traite — mais c'est souvent un vœu pie — de rejeter les premiers jets. Cela est évidemment facile à exécuter avec le bétail. Mais il est évident que l'on ne peut exiger des donneuses de se soumettre à une extraction en deux temps d'autant plus alors qu'il faudrait mettre à leur disposition quatre tire-lait (2 pour retirer les premiers jets de chaque sein, 2 pour la récolte du lait «stérile»). De plus, et quel que soit le procédé de traite employé (tire-lait simple à pompe manuelle, tire-lait à pression d'eau, tire-lait électrique), il est impossible pratiquement d'obtenir réellement un lait aseptique. Puis le lait peut se contaminer facilement au contact des bouteilles de stockage — même si elles sont parfaitement stériles au départ, du fait de leur ouverture à plusieurs reprises — et, de toute façon, la teneur en germes augmente au fur et à mesure de sa conservation et des traites successives selon la température ambiante de la chambre. Pour éviter autant que possible cette pollution bactérienne indésirable entre les diverses prises et le ramassage du lait, le Centre de Genève remet à chaque femme — pour autant qu'elle ne possède point de frigidaire — un thermos avec de la glace dans lequel la bouteille est placée entre les traites.

#### *Prélèvements et analyses des échantillons*

Pour des raisons pratiques, comme nous l'avons vu dans notre chapitre introductif, il n'est pas possible de faire venir les femmes au Lactarium deux à trois fois par jour et même davantage pour la traite. Les donneuses sont instruites quant au mode de prélèvement par une infirmière qui leur donne les renseignements techniques et hygiéniques nécessaires, à savoir:

1. le tire-lait doit être bouilli durant 20 minutes avant chaque traite;
2. les seins doivent être désinfectés au moyen d'un antiseptique approprié (alcool-glycérine, Merfen, Anabax, etc.);
3. les bouteilles de remplissage doivent être mises soit dans le thermos, soit à la glacière entre chaque extraction.

En dépit de ces instructions précises, combien de fois n'avons-nous pas vu ces règles pourtant simples, enfreintes à maintes reprises. Une donneuse qui, fait exceptionnel, arrivait à fournir plus d'un litre de lait par jour, ne remplissait-elle pas, une fois le premier biberon stérile plein, une bouteille à bière qui, bien entendu, n'avait été ni stérilisée, ni même lavée, en dépit des autres bouteilles qui lui avaient été remises!

Combien de fois également, et malgré toutes les recommandations, les tire-lait restent à l'air libre et ne sont pas bouillis avant chaque traite! Combien de fois encore, les bouteilles restent des heures durant à la température de la chambre avant d'être mises dans le thermos ou placées au frigidaire!

La récolte des laits est faite par un garçon de course, une fois par jour, qui emporte les bouteilles pleines et remet, pour le lendemain, les bouteilles stériles.

Les divers échantillons sont apportés au laboratoire pour être soumis aux examens bactériologiques (voir tableau 1).

Tableau 1

Année	Nombre de prélèvements	Nombre de germes par cm <sup>3</sup>								
		de 0 à 100	de 101 à 1000	1001 à 10 000	10 000 à 100 000	100 000 à 1 mil.	1 mil. à 10 mil.	10 mil. à 100 mil.	100 mil. à 1 Mil.	plus de 1 Mil.
1951	79	7	13	11	15	15	15	3		
1952	112	3	2	18	17	22	21	22	6	1
1953	82	5	2	8	14	16	12	15	5	5
Total	273	8	11	39	42	53	48	52	14	6

mil. = million  
Mil. = milliard

Minimum absolu: 6 germes par cm<sup>3</sup>  
Maximum absolu: 1 milliard 500 millions par cm<sup>3</sup>

La lecture de ces divers chiffres permet, entre autres, de faire les constatations suivantes:

1. nous n'avons jamais trouvé d'échantillon qui soit stérile;
2. le minimum absolu de germes décelé fut de 6 par cm<sup>3</sup>, le maximum absolu de 1 milliard 500 millions par cm<sup>3</sup>;
3. les pollutions les plus fréquentes comportent une teneur allant de 100 000 à 100 millions de microorganismes (153 prélèvements sur 273, soit le 56 %).

Le tableau 2 met en évidence particulière, le pourcentage de la souillure bactérienne.

Tableau 2

Sur 273 examens		
Nombre de germes par cm <sup>3</sup>	Nombre d'échantillons	Pourcentage
de 0 à 100	8	3,0
de 101 à 1,000	11	4,0
de 1,001 à 10,000	39	14,2
de 10,000 à 100,000	42	15,3
de 100,000 à 1 million	53	19,4
de 1 à 10 millions	48	17,5
de 10 millions à 100 millions	52	19,2
de 100 millions à 1 milliard	14	5,3
plus de 1 milliard	6	2,1

Nous ne congelons, sans les stériliser ou les pasteuriser au préalable, que les laits qui sont d'une richesse inférieure à 25 000 germes par cm<sup>3</sup> et qui, bien entendu, ne renferment aucune espèce pathogène. Cette congélation du lait maternel permet de conserver intégralement, comme l'un de nous l'a montré antérieurement<sup>3)</sup> les ferments, notamment la lipase et de fournir ainsi un lait cru, non modifié par chauffage.

Dans ces conditions, nous avons pu congeler directement un certain nombre d'échantillons (tableau 3).

Tableau 3

Année	Lait comportant moins de 25 000 germes par cm <sup>3</sup>	Pourcentage
1951	22	27,7
1952	25	23,3
1953	20	24,4
	67	24,5

Sur les 273 laits examinés, 67 seulement, soit le quart environ (24,5 %) ont pu être conservés par congélation. Tous les autres ont dû être stérilisés préalablement avant d'être congelés ou distribués immédiatement.

### Bibliographie

- <sup>1)</sup> *Langevin et Granval: Technologie laitière*, Edit. Dunand, Paris 1946.
- <sup>2)</sup> Committee on Mother's milk. J. Of. Peditries **23**, 112 (1943).
- <sup>3)</sup> *Martin du Pan, Novel et Roux: Annales paediatrici* **178**, 287 (1952).
- <sup>4)</sup> *van Espen: La santé de l'homme* **44**, 126 (1947).

## Diskussion

*Frage Thomann:* Wurden die verschiedenen Arten der Bakterien bestimmt?

*Réponse:* Les principales espèces rencontrées ne comportent que des micro-organismes d'origine externe (genre *Micrococcus*, *Sarcina* en majorité, des bactéries sporulées comme *B. subtilis*, *B. mesentericus*, etc.). Dans certains cas, nous avons mis en évidence soit *Micrococcus pyogènes*, var. *aureus* (Staphylocoque doré) ou *Pseudomonas aeruginosa* (Bac. pyocyanique) avant même qu'une mastite se soit cliniquement déclarée. Il est évident que les laits contenant des bactéries pathogènes sont automatiquement éliminés.

*Frage Högl:* Wird die Muttermilch mit höherer Keimzahl pasteurisiert oder sterilisiert?

*Antwort:* Dies wird bejaht. Bei sehr hoher Keimzahl kann dennoch eine Schädlichkeit vorliegen, da grosse Mengen von Stoffwechselprodukten auftreten.

*Frage Roulet:* Spielen die Gesundheit der Mutter und die sozialen Verhältnisse eine Rolle für die Gesundheit der Milch?

*Réponse:* Les donneuses sont toutes des personnes saines et qui ont été examinées médicalement. La position sociale de la jeune maman n'intervient pas: on peut trouver un très grand nombre de germes aussi bien dans des laits provenant de personnes aisées et dont l'éducation hygiénique est parfaite que de personnes de situation modeste.

Dr. O. Allemand, Bern:

## Mikrobiologische Teste zur Prüfung auf Antibiotika

Dieses Referat ist uns leider bis zur Drucklegung des vorliegenden Berichtes nicht zugekommen.

Keine Diskussion.

Mit diesem Kurzvortrag muss mit Rücksicht auf die vorgeschrittene Zeit der wissenschaftliche Teil des ersten Tages abgebrochen werden, obwohl programmatisch noch das Kurzreferat von Herrn S. Hoffmann, St. Gallen, vorgesehen ist. Dieses wird auf den nächsten Morgen verschoben.

Ab ca. 19.00 Uhr treffen sich die Teilnehmer, z.T. begleitet von ihren Damen, bei prachtvollem Herbstwetter im Park des Palais du Peyrou zum Aperitif, offeriert von der Canada Dry S.A. in Le Landeron. Die hell erleuchtete Fassade des Palais, geschmückt mit der Schweizer- und den Stadtfahnen, bildet einen prächtigen Hintergrund für den festlichen Anlass. Dann folgt ein in jeder Hinsicht gelungenes Bankett in den Sälen des Palais. Den Reigen der Tischreden eröffnet Prof. Högl mit einem herzlichen Willkommensgruss an Gäste und Mitglieder, insbesondere aber auch an den Präsidenten des neuengburgischen Regierungsrates, Herrn Leuba. Er findet auch einige liebenswürdige Worte für Neuen-

burg und seine schöne Umgebung, dieses hübsche Ländchen, dessen Gäste wir in diesen Tagen sein dürfen. Kollege *Achermann* übernimmt es, spezielle Willkommensgrüsse an die anwesenden Damen zu richten. Er tut dies mit gewohnter Gewandtheit unter dem für die Damen besonders flattierenden Motto: «Une table sans femmes est une table sans fleurs.» Als besondere Überraschung überreicht er letztern eine hübsche Brosche zur Erinnerung an die denkwürdige Tagung. Und schliesslich findet jede der Damen in ihrem Hotelzimmer einen Blumenstrauß mit persönlicher Widmung von den Organisatoren vor. Für diese grosse Aufmerksamkeit sei hier unserem Kollegen *Achermann* nochmals der herzlichste Dank ausgesprochen. Regierungsrat *Leuba* überbringt den Gruss des Staates Neuenburg. Er betont, dass die neuenburgischen Industrien oft die Hilfe der Chemiker beanspruchen. Er erwähnt lobend die wissenschaftlichen Laboratorien Neuenburgs und bricht gleichzeitig dafür eine Lanze, es möge den westlichen Ländern gelingen, das gemeinsame Erbe der Zivilisation zu bewahren.

Gegen 23.00 Uhr bewegt sich der Zug der Gäste zum Hafen von Neuenburg, wo die festlich geschmückte «Fribourg» zu einer Rundfahrt auf dem See einlädt, und der vom Staate Neuenburg aus seinen Kellereien gestiftete Wein trägt nicht unwesentlich zu der an Bord herrschenden fröhlichen Stimmung bei.

## **2. Sitzung**

Samstag, den 19. September 1953

Am Samstagmorgen um 08.00 Uhr werden die Referate fortgesetzt. Es stehen auf dem Programm:

2. Hauptreferat von Herrn Dr. *W. Ritter*, Liebefeld-Bern:

### **Ergebnisse neuerer Forschungen über die Ernährung der Milchsäurebakterien**

#### *1. Einleitung*

Auch der Lebensmittelchemiker kommt oft in Berührung mit Milchsäurebakterien, z. B. in saurer Milch, Joghurt, Kefir, Butter, Käse, Sauerkraut oder anderen Produkten. Wenn diese Organismen ausgezählt oder isoliert werden sollen, so benützt er im allgemeinen bewährte Nährböden, vor allem natürliche, wie sterile Milch, zuckerhaltigen Fleischwasseragar, Molkenagar, Bierwürzenagar oder Spezialnährböden. Es handelt sich auf alle Fälle um in chemischer Hinsicht sehr komplizierte Medien, bei denen man nicht weiss, welche reinen Stoffe darin die Grundlage für das Wachstum bilden. Es sollen heute einige

Fragen über die an der Ernährung der Milchsäurebakterien beteiligten Substanzen besprochen werden <sup>\*)</sup>.

Es handelt sich hierbei um Ergebnisse, die im allgemeinen nicht eine sofortige Anwendung in der Praxis erlauben. Einmal hat sich die Forschung auf diesem Gebiet bis jetzt nur mit verhältnismässig wenigen Organismen eingehender befasst. Anderseits bieten die bisher zur Züchtung der Milchsäurebakterien verwendeten Nährböden für die Praxis sehr günstige Verhältnisse in dem Sinne, als meistens alle notwendigen Faktoren darin reichlich vorhanden sind. Dagegen ist die Kenntnis dieser Ergebnisse namentlich von Bedeutung für die Erreichung spezieller Zwecke, wie die mikrobiologische Bestimmung von Vitaminen und Aminosäuren.

Nach der zurzeit gültigen Einteilung der Milchsäurebakterien in *Bergey's Manual* <sup>1)</sup> umfasst die Familie Lactobacteriaceae einerseits den Stamm Streptococcaceae mit den Genera *Diplococcus*, *Streptococcus* und *Leuconostoc*, sowie anderseits den Stamm Lactobacilleae mit den Genera *Lactobacillus*, *Microbacterium*, *Propionibacterium* und *Butyribacterium*. Die beiden letzteren stellen die Propionsäurebakterien, bekannt durch die Lochbildung in den Emmentalerkäsen, und ein sporenloses, Buttersäure bildendes Milchsäurebakterium dar, das nicht mit den die Spätblähung der Käse verursachenden sporenbildenden Buttersäurebazillen zu verwechseln ist. Das Genus *Microbacterium* passt nicht in die Familie der Milchsäurebakterien, und es liegen auch Vorschläge vor für seine Abtrennung <sup>2)</sup>.

Nach der älteren Systematik der Milchsäurebakterien von *Orla-Jensen* <sup>3)</sup> werden sowohl bei den Stäbchen wie bei den Streptokokken homofermentative und heterofermentative Gruppen unterschieden. Die ersten bilden bei der Vergärung von Kohlehydraten praktisch reine Milchsäure, die letzteren dagegen neben dieser noch mehr oder weniger beträchtliche Mengen von Kohlensäure, Essigsäure und Alkohol sowie gelegentlich auch Acetyl methylcarbinol und Diacetyl.

Bei der Vergärung von Pentosen liefern auch die homofermentativen Milchsäurebakterien neben Milchsäure eine entsprechende Menge Essigsäure.

Wesentlich für die Zuordnung eines Mikroorganismus zu den Milchsäurebakterien ist neben der Bildung beträchtlicher Mengen von Milchsäure aus Zuckern, vor allem aus Glukose, das Fehlen von freiem Wasserstoff in den Gärungsprodukten und, ausgenommen bei *Microbacterium*, die Unfähigkeit, Nitrate zu reduzieren. Mit Ausnahme der Mikrobakterien und der Propionsäurebakterien bilden die Milchsäurebakterien auch keine Katalase. Dies kann unter Umständen bei der Einwirkung von Sauerstoff auf ihre Kulturen zur Bildung

<sup>\*)</sup> Eingehender wurde das Problem behandelt in einem Beitrag des Verfassers <sup>58)</sup> am Symposium 3 (Nutrition and growth factors) des 6. Internationalen Kongresses für Mikrobiologie (6.—12. September 1953) in Rom, wo auch auf verschiedene frühere Zusammenfassungen <sup>59)</sup> hingewiesen wird.

geringer Mengen von Wasserstoffperoxyd führen. Von Milchsäurebakterien ausgeübte antibiotische Wirkungen wurden in einzelnen Fällen auf eine derartige Entstehung von Wasserstoffperoxyd zurückgeführt<sup>4)</sup>.

## 2. Das Wachstum auf natürlichen Substraten

Die Milchsäurebakterien zeigen eine für gute Ernährungsverhältnisse sprechende sehr starke und rasche Vermehrung auf verschiedenen natürlichen Nährböden, wie Milch, Molke, Malzauszügen, Gemüsesäften usw. Vielfach gedeihen Milch-Milchsäurebakterien schlecht oder gar nicht auf Gemüseauszügen usw. und umgekehrt. Im allgemeinen kommen Milchsäurebakterien nur in guten und an Nähr- und Wuchsstoffen reichen Substraten vor, nicht aber in nährstoffarmen Stoffen, wie Wasser.

Die Milchsäurebakterien ziehen ganz allgemein Sauerstofffreiheit der Gegenwart von Sauerstoff vor, wobei in letzterem Falle auch eine Hemmung des weiteren Wachstums durch Wasserstoffperoxyd, in beiden Fällen aber durch die entstandene Milchsäure, stattfinden kann.

Das an sich gute Wachstum der Milchsäurebakterien auf natürlichen Nährböden, wie Milch, kann in vielen Fällen durch die Zugabe von Peptonen, Hefeextrakt, Leberauszügen und dergleichen noch wesentlich gesteigert werden.

## 3. Die Ansprüche der Milchsäurebakterien

Die Milchsäurebakterien bedürfen wie die anderen Mikroorganismen im wesentlichen folgender Grundnährsubstanzen:

- a) einer Energiequelle, die bei ihrem Umsatz die für den Aufbau der Zellen notwendige Energie liefert, in erster Linie ein Kohlehydrat,
- b) einer Kohlenstoffquelle, die den Kohlenstoff zur Verfügung stellt, aus dem die organischen Zellbestandteile aufgebaut werden können,
- c) einer Stickstoffquelle, aus der die von der Bakterienzelle synthetisierten stickstoffhaltigen Inhaltsstoffe sich bilden können,
- d) der Mineralstoffe,
- e) einer Anzahl Vitamine und Wachstumsfaktoren.

Der Bedarf an den unter a bis c genannten Substanzen bewegt sich in wesentlich höheren Konzentrationen als der an den unter d und e aufgeführten Stoffen. Die ersten dienen unmittelbar zum Aufbau der die Hauptmasse ausmachenden Zellbestandteile, wie der Zellwand, der Bakterien-Polysaccharide und -Proteine, der Fette usw. Die letzteren dagegen üben eine mehr katalytische Tätigkeit aus, das heißt, sie sind notwendig als Bestandteile von Enzymen, mit deren Hilfe die Bakterienzelle ihre Aufbau- und Abbauvorgänge durchführt.

Die notwendigen Mineralstoffe müssen, wie die Energie-, die Kohlenstoff- und die Stickstoffquelle, im Nährmedium vorhanden sein, während einzelne der Wuchsstoffe und Vitamine von der Zelle selber synthetisiert werden können.

Die Gegenwart der Vitamine und Wuchsstoffe ist stets notwendig, aber Organismen, die ihren Zusatz zum Nährboden nicht verlangen, bauen sie selber auf, so dass sie nachher nachgewiesen werden können.

#### 4. Die Untersuchung der Ansprüche der Milchsäurebakterien

Durch das Wachstum der Milchsäurebakterien auf an Nährstoffen sehr reichen Nährböden, wie Milch und dergleichen, lassen sich die von den Organismen benötigten Stoffe nicht ermitteln, da diese Substrate viel zu kompliziert zusammengesetzt sind.

Verhältnismässig einfacher gestaltet sich die Bestimmung der Kohlenstoffquelle, die bei den Milchsäurebakterien praktisch mit der Energiequelle identisch ist. Sie kann in der Weise erfolgen, dass die Vergärung der verschiedenen Kohlehydrate, die vor allem als solche in Frage kommen, untersucht wird. Die Säurebildung aus den verschiedenen Zuckern ist aber stark von der Stickstoffquelle, als welche meist Peptone dienen, abhängig. Das führt dazu, dass einzelne Zucker in Gegenwart gewisser Peptone zu Milchsäure vergoren werden, in Gegenwart anderer aber nur schwächer oder gar nicht<sup>3)</sup>. Man behilft sich in diesem Falle im allgemeinen mit einem aus verschiedenen Peptonen zusammengesetzten Grundnährboden, dem dann die einzelnen Zucker zugesetzt werden.

Die Bestimmung der Vitamine und Wuchsstoffe, die für die Züchtung der Milchsäurebakterien notwendig sind, wurde erst in neuerer Zeit in Angriff genommen.

Ein erstes Eindringen in diese Probleme geht zurück auf *Wildiers*<sup>5)</sup>, der 1901 berichtete, dass geringe Impfmengen von gewissen Hefen in einem Nährboden aus reinem Zucker, Ammoniumsalz und Hefeasche nur angehen, wenn kleine Mengen von Malzextrakt oder ähnlichen Stoffen zugesetzt werden. *Wildiers* nannte die in diesen Zusätzen enthaltene wirksame Substanz «Bios», welche Annahme von zahlreichen andern Forschern sofort heftig bekämpft wurde. Die meisten führten hierbei die an sich unbestrittene Wachstumswirkung des Malzextraktes auf irgendwelche anderen Stoffe zurück, nur nicht auf das «Bios»<sup>6)</sup>. Heute hat sich die Annahme von *Wildiers* als absolut richtig herausgestellt, wenn sich auch inzwischen zeigte, dass sein «Bios» nicht aus einem einzigen Stoffe, sondern aus einer ganzen Anzahl von Vitaminen der B-Gruppe besteht.

Die ersten, die die Wirkung von B-Vitaminen auf Milchsäurebakterien untersuchten, waren wahrscheinlich *J. G. Davis* und *A. T. R. Mattick*<sup>7)</sup> von der englischen milchwirtschaftlichen Forschungsanstalt in Reading. Sie konnten 1930 nachweisen, dass ein aus roten Flecken in Käse isoliertes Milchsäurebakterium durch einen in Vitamin-B<sub>1</sub>-Konzentraten enthaltenen Faktor gefördert wird, der aber nicht Vitamin B<sub>1</sub> selber ist.

Einen wesentlichen Fortschritt brachten um die Mitte der Dreissigerjahre die Untersuchungen von *Orla-Jensen*<sup>8)</sup> und seinen Mitarbeitern über die in der Milch vorhandenen Wuchsstoffe. Er behandelte Milch und Molke mehrfach

mit Kohlepräparaten, wodurch das Wachstum verschiedener Milchsäurebakterien verunmöglicht wurde, obgleich der Gehalt an Zucker und Stickstoffnahrung nur eine unwesentliche Verminderung erfuhr. Durch die nachträgliche Zugabe der aus der Kohle wieder herausgelösten Stoffe zu solcher Milch oder Molke konnte das Wachstum wieder hervorgerufen werden. Ähnliche Effekte liessen sich erzielen durch die Behandlung der Milch mit Alkalien. *Orla-Jensen* konnte zeigen, dass das kurz zuvor entdeckte Laktoflavin für das Wachstum verschiedener Milchsäurebakterien notwendig ist. Er wies ebenfalls hin auf den Bedarf der Milchsäurebakterien an verschiedenen Aminosäuren, wie Phenylalanin, Lysin, Histidin, Arginin, Glutaminsäure und Asparaginsäure. Von ihm stammt auch die Erkenntnis, dass *Peptone* und *Hefeextrakt* nicht bloss wichtig sind durch ihren Gehalt an leichtverwertbaren Stickstoffverbindungen, sondern namentlich auch durch die darin enthaltenen Vitamine und Wuchsstoffe.

Die weitere Abklärung dieser Ernährungsprobleme wurde dann in der letzten Zeit vor allem ermöglicht durch die weitgehende Verwendung in ihrer Zusammensetzung genau bekannter Medien. Diese sogenannten *synthetischen Nährösungen* enthalten nur reinste einheitliche Stoffe, in denen dann die Wirkung verschiedener Zusätze ausgetestet werden kann.

Auf diese Weise liess sich die Notwendigkeit gewisser natürlicher Zusätze erweisen, und im weiteren Verlauf konnten verschiedene der darin enthaltenen Vitamine aufgefunden, isoliert, in ihrer Konstitution aufgeklärt und synthetisiert werden. Auf diese Fragen soll im weiteren Verlaufe des Vortrages näher eingegangen werden.

### 5. Die Energiequelle der Milchsäurebakterien

Als solche dienen im allgemeinen Kohlehydrate, vor allem Hexosen, aber auch Disaccharide und unter Umständen Polysaccharide, wie Stärke, Inulin, sowie anderseits Zuckeralkohole und Glykoside. Es gibt Fälle, in denen Pentosen den Hexosen vorgezogen werden<sup>9)</sup>. Unter den in erster Linie als Energiequelle verwendbaren Hexosen werden Glukose und Laevulose am häufigsten benutzt. Mannose und namentlich Galaktose werden von einer geringeren Zahl von Milchsäurebakterien vergoren.

Bei der Vergärung der Disaccharide nimmt man im allgemeinen eine vorherige Hydrolyse zu den entsprechenden Monosacchariden an. Es gibt aber auch Fälle, in denen Disaccharide, vor allem Lactose und Saccharose, den Monosacchariden vorgezogen werden, z. B. bei *Streptococcus thermophilus*<sup>10)</sup>. Dies ist jedenfalls vor allem auf zwei Ursachen zurückzuführen<sup>11)</sup>: Erstens entstehen vielfach bei der gleichzeitigen Sterilisation von Glukose mit stickstoffhaltigen Nährbodenbestandteilen für den betreffenden Organismus giftige Stoffe. Zweitens ist ein wesentlicher Grund jedenfalls der, dass bei der Hydrolyse des Disaccharides durch den Organismus eine andere Glukose entsteht, als bei der direkten Glukosezugabe (Cori-ester, Glukose-l-phosphat). In die gleiche Rich-

tung weist die bekannte Tatsache, dass *Leuconostoc mesenteroides* und *Leuconostoc dextranicum* ihre auffällige Schleimbildung nur mit Saccharose durchführen können, nicht aber mit Glukose.

Für die Verwendung der Zuckervergärung für diagnostische Zwecke muss man sich stets daran erinnern, dass die Vergärung der verschiedenen Zuckerarten stark von den verwendeten Peptonen abhängig ist.

### 6. Die Kohlenstoffquelle

Wie schon erwähnt, lässt sich in den meisten Fällen bei den Milchsäurebakterien nicht unterscheiden zwischen der Energiequelle und der Kohlenstoffquelle, das heisst, die gleiche Verbindung dient für beide Zwecke. Neben Zuckerarten können einzelne Milchsäurebakterien auch andere Kohlenstoffquellen benützen. So gedeihen die Propionsäurebakterien auch auf Lactaten und Fäkalstreptokokken auch mit Zitraten ohne die Gegenwart von Zuckerarten. Von diesen Möglichkeiten wird namentlich auch zur Isolierung und zum Nachweis verschiedener Milchsäurebakterien Gebrauch gemacht.

Die Änderung der Kohlenstoffquelle und damit meist auch der Energiequelle ist mit einer Umstellung des Stoffwechsels verbunden. So verlegt sich der Organismus von der vorherrschenden Milchsäuregärung auf die Deckung des Energiebedarfs aus anderen Reaktionen, vor allem durch den Abbau stickstoffhaltiger Substanzen.

### 7. Die Stickstoffquelle

Als Stickstoffquellen benützen die Milchsäurebakterien vor allem Eiweiss und Eiweissabbauprodukte, wie Peptone, Peptide und Aminosäuren. Ammoniak kann allein nicht als Stickstoffquelle dienen, wohl aber vermag es in Gegenwart der notwendigen Aminosäuren das Wachstum zu verbessern. Es wird angenommen, dass es zur Synthese der vom Organismus selbst aufgebauten Aminosäuren Verwendung findet<sup>12)</sup>.

Andere Stickstoffkörper, wie Harnstoff, Kreatin, Kreatinin usw., können von den Milchsäurebakterien nicht zum Wachstum verwertet werden.

Relativ sehr gutes Wachstum findet statt, wenn den Milchsäurebakterien neben Kohlehydraten Eiweissabbauprodukte, vor allem Peptone, zur Verfügung gestellt werden. Allerdings weiss man hier nicht, welche Bestandteile für das Wachstum massgebend sind, und es ist im einzelnen Falle auch nicht bekannt, wie weit Vitamine und Wuchsstoffe daran beteiligt sind. Gewisse Peptone können auf Milchsäurebakterien ausgesprochen hemmend einwirken. Worauf dies beruht, scheint im allgemeinen nicht bekannt zu sein.

Vielfach bearbeitet wurde in den letzten Jahren namentlich der Bedarf der Milchsäurebakterien an den einzelnen *Aminosäuren*. *Leuconostoc mesenteroides* P-60 verlangt zu seinem Wachstum die Gegenwart von 17 Aminosäuren, während andere Milchsäurebakterien mit einer geringeren Zahl auskommen kön-

nen<sup>13)</sup>. Allerdings ist dieser Bedarf noch von anderen Umständen abhängig, in erster Linie von der Gegenwart bestimmter Vitamine.

Normalerweise verwerten die Milchsäurebakterien nur die normalen L-Aminosäuren. Einige Organismen besitzen Racemases, Enzyme, mit denen sie die D-Aminosäuren in die natürlichen L-Formen umwandeln können. Ein spezieller Fall liegt vor beim D-Alanin, das unbedingt vorhanden sein muss, wenn verschiedene Milchsäurebakterien in Abwesenheit von Vitamin B<sub>6</sub> wachsen sollen<sup>14)</sup>.

Mehrfach untersucht wurde auch die Verwertbarkeit der *Peptide* für das Wachstum von Milchsäurebakterien. Neben Fällen, in denen die einzelnen Aminosäuren in Peptidbindung gleich wirksam waren wie in freier Form, finden sich sowohl solche, wo sie weniger oder gar nicht verwertbar sind, wie auch solche, in denen sie aktiver sind. Unter Umständen sind sie in den Peptiden besser ausnutzbar, weil sie in freier Form anderweitig verwendet werden. Dies ist der Fall z. B. beim Tyrosin, das von *Streptococcus faecalis* in freier Form bei Gegenwart von viel Vitamin B<sub>6</sub> rasch zum unwirksamen Tyramin decarboxyliert wird<sup>15)</sup>.

Die später noch kurz zu besprechenden Antagonismen zwischen den einzelnen Aminosäuren sind bei den Peptiden weniger ausgesprochen und geben daher weniger Anlass zu Störungen des Wachstums.

### 8. Die Mineralstoffe

Da verschiedene Mineralstoffe Bestandteile lebensnotwendiger Enzyme darstellen, müssen sie in den Nährösungen unbedingt vorhanden sein. Allerdings ist der Bedarf der Milchsäurebakterien oft so klein, dass er praktisch kaum untersucht werden kann. Oft kann schon der Gehalt auch der reinsten Substanzen und die Aufnahme aus den Glaswaren zu seiner Deckung genügen. So lässt sich bis jetzt der Bedarf an Kobalt für das auch von vielen Milchsäurebakterien aufgebaute kobalthaltige Vitamin B<sub>12</sub> (Cyanocobalamin) nicht nachweisen.

McLeod und Snell<sup>16)</sup> studierten den Bedarf verschiedener Milchsäurebakterien an Alkalimetallen in einer synthetischen Nährösung, die an Stelle von Alkalien Triäthanolamin als Base enthielt. Hier trat gutes Wachstum ein nach Zusatz von Kaliumsalzen. Natrium- und Ammoniumsalze hemmten durch Verdrängung des Kaliums. Obwohl Calcium im allgemeinen nicht als direkt notwendig betrachtet wird, gibt es doch eine Anzahl Fälle, in denen es fördert oder bestehende Schädigungen durch andere Substanzen wieder beheben kann<sup>17)</sup>.

Das Wachstum namentlich von *Lactobacillus casei* und *Lactobacillus plantarum* wird wesentlich verbessert durch Zusätze von Mangan<sup>8)18)</sup>. Mangan ist auch bei anderen Milchsäurebakterien wichtig zur Behebung der schädigenden Wirkung von Zitratzusätzen<sup>19)</sup>. Ähnlich verhält sich auch Magnesium. Die ungünstige Wirkung des Zitrats wird zurückgeführt auf eine komplexe Bindung des Mangans. Dasselbe ist der Fall bei andern Chelate bildenden Substanzen,

wie dem Aethylendiamintetraacetat<sup>20</sup>). Bei diesen kann durch erhöhte Manganzugabe der Schaden wieder ausgeglichen werden, nicht aber bei Gegenwart von Fluorid.

## 9. Der Bedarf der Milchsäurebakterien an Vitaminen und Wachstumsstoffen

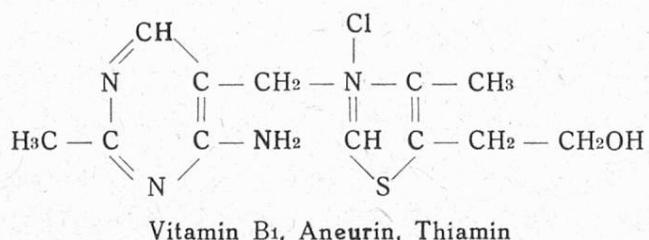
Durch die ausgedehnte Verwendung der synthetischen Nährlösungen liess sich der Anspruch zahlreicher Milchsäurebakterien an Vitaminen der B-Gruppe und an sonstigen Wuchsstoffen ermitteln. Demgemäß können diese Vitamine auch, wie die Aminosäuren, durch die Verfolgung des Milchsäurebakterienwachstums bestimmt werden.

Alle Milchsäurebakterien benötigen eine Anzahl Vitamine. Drei dieser Vitamine, Biotin, Pantothenäure und Nikotinsäure, sind für sämtliche Milchsäurebakterien unerlässlich. Die meisten wachsen aber nur, wenn neben diesen Vitaminen noch weitere, wie Aneurin, Laktoflavin, p-Aminobenzoësäure, Folsäure, Vitamin B<sub>6</sub> oder B<sub>12</sub>, vorhanden sind.

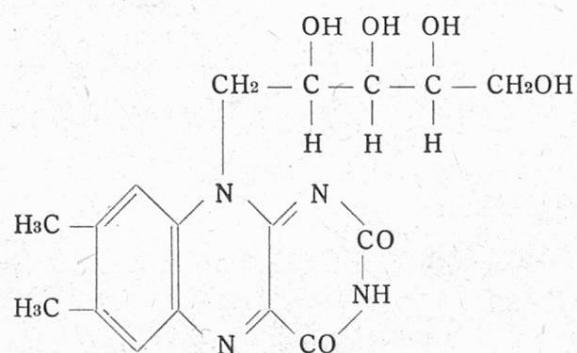
Die Vitamine werden von den Milchsäurebakterien meist in die als Co-Fermente aktiven Verbindungen übergeführt, so dass sie nur in einzelnen Fällen direkt die fertigen Co-Enzyme benötigen.

Es sei im nachfolgenden kurz auf die wichtigsten Stoffe eingegangen:

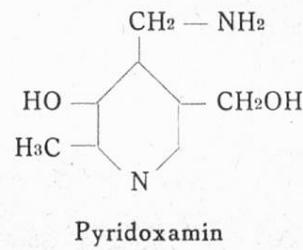
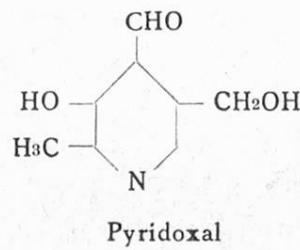
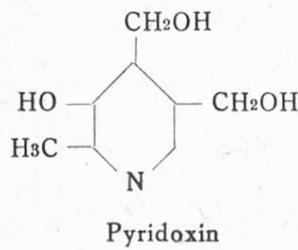
a) *Vitamin B1*: Dieses wird im wesentlichen benötigt durch *Lactobacillus fermenti*, der auch zu seiner quantitativen Bestimmung verwendet werden kann. Daneben sind namentlich auch viele Propionsäurebakterien auf seine Gegenwart im Nährboden angewiesen.



b) **Laktoflavin:** *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrückii*, *Streptococcus faecalis* und *Streptococcus lactis* wachsen nur bei Gegenwart von Laktoflavin in den Nährösungen. Zur quantitativen mikrobiologischen Bestimmung des Laktoflavins werden vor allem *Lactobacillus helveticus* und *Streptococcus faecalis* verwendet.



c) *Pyridoxin*: Im Gegensatz zu Hefen können Milchsäurebakterien das Vitamin B<sub>6</sub> in der Form des Pyridoxins nicht verwenden, sondern erst in seinen Co-Enzymformen als Pyridoxal oder Pyridoxamin und als deren Phosphate. Die Bestimmung dieser Modifikationen nebeneinander erfolgt durch den Wachstumstest mit verschiedenen Organismen. So sind für die Hefe *Saccharomyces carlsbergensis* alle drei Formen gleich wirksam. Für *Lactobacillus casei* ist nur Pyridoxal hochaktiv, die beiden andern Verbindungen aber unwirksam. *Streptococcus faecalis* dagegen spricht stark an auf Pyridoxamin und Pyridoxal, während Pyridoxin höchstens so weit wirkt, als ganz kleine Mengen in die genannten Substanzen umgewandelt werden<sup>21)</sup>.

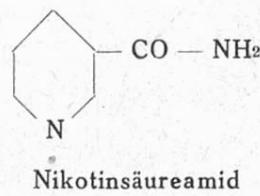
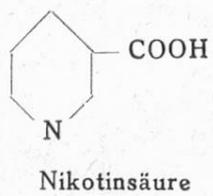


Die aktiven Formen des Pyridoxins können im Wachstumstest teilweise durch Aminosäuren ersetzt werden. So kann *Lactobacillus arabinosus* in Gegenwart von Caseinhydrolysat ohne B<sub>6</sub> gedeihen, da er es synthetisieren kann. Beim Fehlen von Cystin, Histidin, Phenylalanin, Tyrosin oder Arginin dagegen erfolgt ohne B<sub>6</sub> kein Wachstum<sup>22)</sup>.

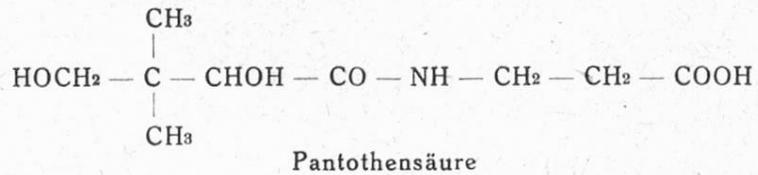
Bei *Streptococcus faecalis* ist Vitamin B<sub>6</sub> auch notwendig in Gegenwart aller Aminosäuren, ausgenommen wenn d-Alanin vorhanden ist.

Das Pyridoxalphosphat ist vor allem wichtig als Bestandteil der sogenannten Transaminasen und Decarboxylasen. Durch erstere können aus Ketosäuren die entsprechenden Aminosäuren aufgebaut werden.

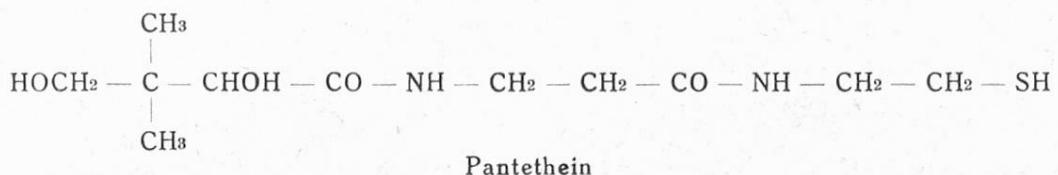
d) *Nikotinsäure*: Diese ist für alle Milchsäurebakterien unbedingt notwendig. Sie kann quantitativ ermittelt werden durch das Wachstum von *Lactobacillus arabinosus*. Sie scheint durch keine anderen Stoffe ersetzbar zu sein.



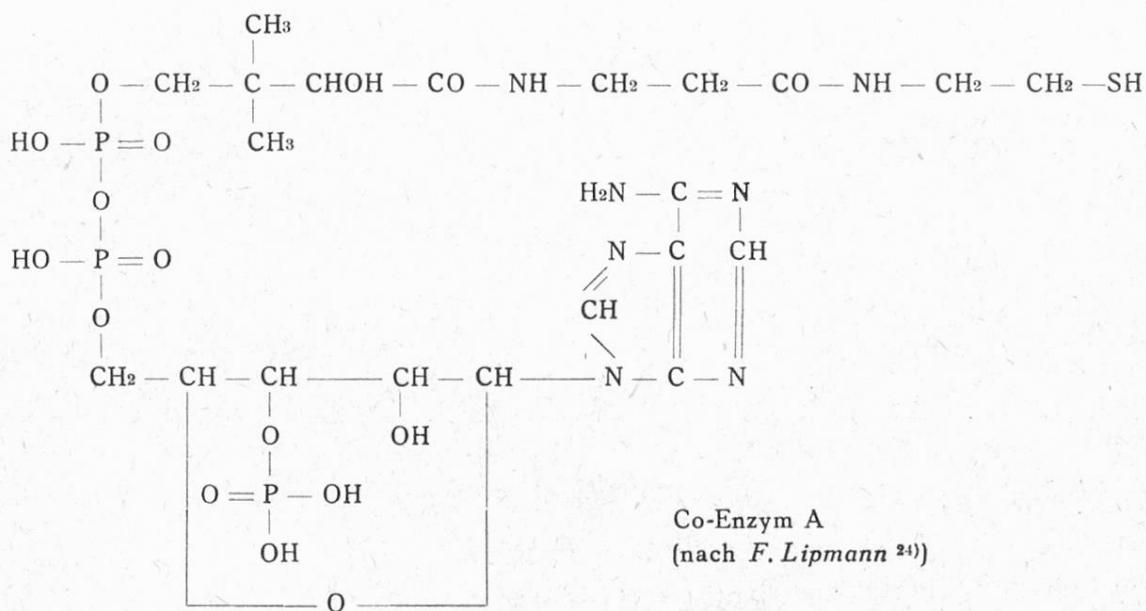
e) *Pantothenäure*: Dieses ebenfalls für alle Milchsäurebakterien notwendige Vitamin kann bestimmt werden durch die Förderung des Wachstums von *Lactobacillus arabinosus*.



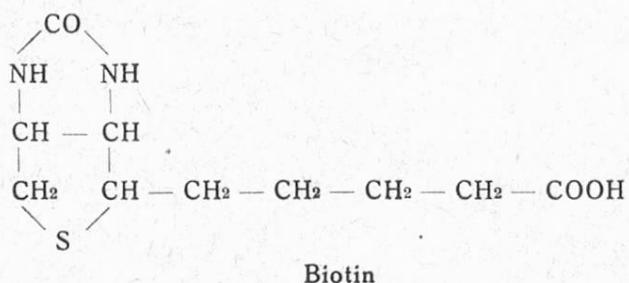
Einige Organismen, namentlich *Lactobacillus bulgaricus*, können mit Pantothenäure nicht zum entsprechenden Wachstum gebracht werden. Sie benötigen vielmehr den sogenannten *Bulgaricus-Faktor*, das Pantethin oder Pantethein, wie die Disulfidform, bzw. die reduzierte Thiolform genannt werden<sup>23)</sup>. Es handelt sich um ein Peptid aus Pantothenäure und  $\beta$ -Mercaptoethylamin, für das bereits verschiedene Synthesen durchgeführt wurden.



Die Pantothenäure wirkt in den Organismen nicht als solche, sondern in der Form des *Co-Enzyms A*<sup>24)</sup>, das die verschiedenen Vorgänge von Acetylierungen ermöglicht, z. B. den Aufbau der Zitronensäure aus Oxalesigsäure und Essigsäure. Die meisten Milchsäurebakterien können es in ihren Zellen aufbauen aus Pantothenäure oder dem *Bulgaricus-Faktor*.



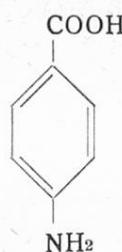
f) *Biotin*: Die quantitative Bestimmung des Biotins erfolgt durch *Lactobacillus arabinosus*. Bemerkenswert sind die Beziehungen zwischen dem Biotin und anderen Substanzen, vor allem den ungesättigten Fettsäuren.



So kann das Biotin in den synthetischen Nährösungen ersetzt werden durch *Ölsäure* und andere ungesättigte Säuren<sup>25)</sup>. In den mit Biotin gewachsenen Zellen ist Ölsäure enthalten, während die mit Ölsäure sich entwickelnden von Biotin frei sind<sup>26)</sup>. Bei Zugabe des biotininaktivierenden Eiweisstoffes *Avidin* wird das Wachstum nur in den Nährösungen mit Biotin gestört, nicht aber in denen mit Ölsäure<sup>27)</sup>. Biotin scheint am Aufbau der Ölsäure oder anderen ungesättigten Säuren in den Zellen katalytisch, das heisst als Bestandteil eines Enzym-Systems, beteiligt zu sein.

Biotin tritt weiterhin in Beziehung zur Synthese der Asparaginsäure und der Verwertung der Kohlensäure.

- g) *p-Aminobenzoësäure*: Die *p*-Aminobenzoësäure bildet einen Baustein der Folsäure, wird aber von einigen Milchsäurebakterien direkt benötigt. Sie kann in diesen Fällen nicht durch Folsäure ersetzt werden. Die Milchsäurebakterien brauchen entweder den einen oder den andern Stoff, aber nicht beide zusammen.

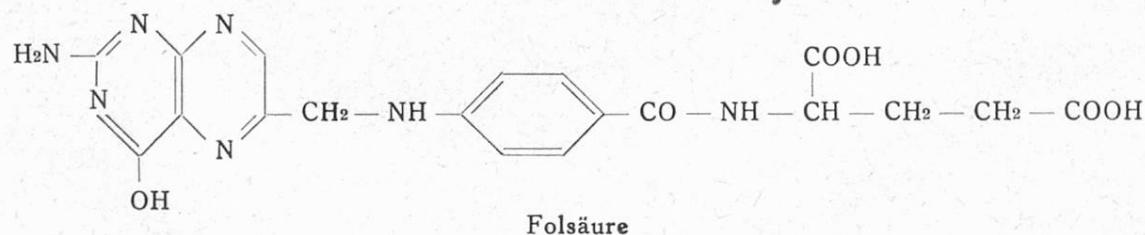


**p-Aminobenzoësäure**

Die *p*-Aminobenzoësäure steht in Beziehung zur Synthese von Purinbasen und zu der des Serins<sup>28)</sup>.

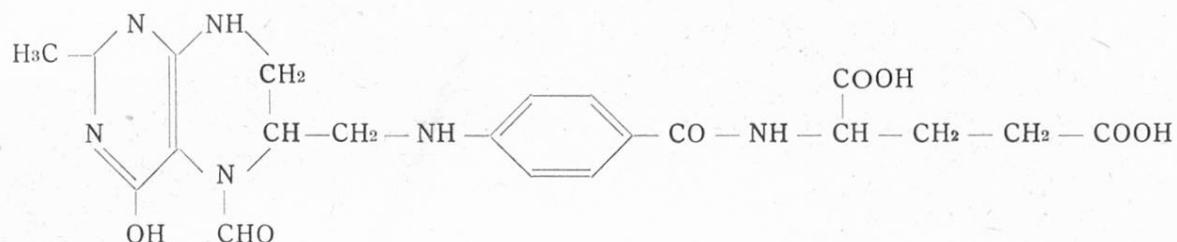
Die bekannte antibakterielle Wirkung der Sulfonamide beruht auf ihrer Ähnlichkeit mit dem Wirkstoff *p*-Aminobenzoësäure, der dadurch von seinem Eingriff in wichtige Vorgänge durch Verdrängung ausgeschlossen wird.

- h) *Folsäure*: Die Folsäure wird unter anderem von *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrückii* und *Streptococcus faecalis* benötigt. Der letztere wird zu ihrer quantitativen Bestimmung verwendet.



**Folsäure**

Einzelne Organismen, wie *Leuconostoc citrovorum* \*), der Aromabildner in den Rahmsäuerungskulturen, vermögen mit Folsäure in synthetischen Nährlösungen nicht richtig zu wachsen. Der diesen Organismus zum Wachstum bringende sogenannte «*Citrovorum-Faktor*» erwies sich als ein Derivat der Folsäure<sup>29)</sup>. Er wird auch *Leucovorin* oder *Folinsäure* genannt und stellt eine Formyl-Tetrahydro-Folsäure dar<sup>30)</sup>. Folinsäure ist für *Streptococcus faecalis* nur halb so wirksam wie die entsprechende Menge Folsäure, für *Leuconostoc citrovorum* aber 200 000 mal aktiver<sup>31)</sup>.



Folinsäure, Citrovorum-Faktor, Leucovorin

Die Folinsäure scheint die Form der Folsäure zu sein, in der sie in den Stoffwechsel eintritt<sup>33)</sup>. Sie wird von den sie nicht benötigenden Milchsäurebakterien aus der Folsäure aufgebaut<sup>34)</sup>.

Wie die Pantothensäure in Beziehung steht zu den Acetylierungen, also den Umsetzungen mit C<sub>2</sub>-Körpern, so steht die Folsäure in Verbindung mit den Umsetzungen mit C<sub>1</sub>-Körpern. Eine solche ist z. B. der Aufbau des Serins aus Glycin und einem C<sub>1</sub>-Körper, z. B. Formaldehyd oder Kohlendioxyd. An diesem komplexen Vorgang sind allerdings auch noch p-Aminobenzosäure, Vitamin B<sub>6</sub> und Nukleinsäurebausteine beteiligt<sup>28)</sup>. 4-Aminofolsäure hat starke antagonistische Wirkungen.

i) *Vitamin B<sub>12</sub>*: Das cyan- und kobalthaltige Vitamin B<sub>12</sub> (Cyanocobalamin) wird von den meisten Milchsäurebakterien, z. B. auch den Propionsäurebakterien<sup>35)</sup>, synthetisiert. Auf die Gegenwart von Vitamin B<sub>12</sub> angewiesen sind namentlich *Lactobacillus lactis* und *Lactobacillus leichmannii*. Dank der Auffindung des Bedarfs des ersten<sup>36)</sup> wurde die Isolierung und Ausstellung dieses wichtigen Antiperiziosa-Faktors erst ermöglicht.

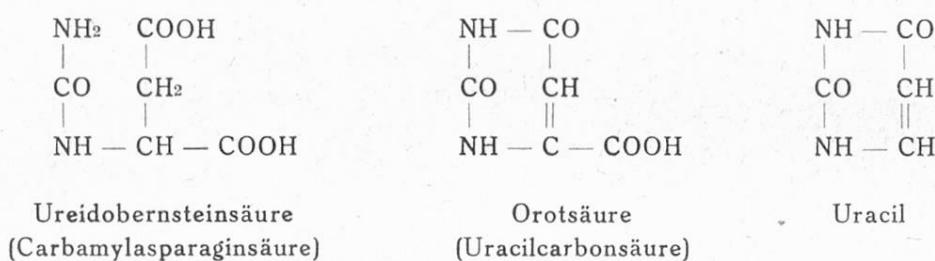
Die beiden Organismen benötigen Vitamin B<sub>12</sub> nicht unter allen Umständen, z. B. nicht bei vollständiger Anaerobiose<sup>37)</sup>.

Vitamin B<sub>12</sub> steht in Beziehung zu den Nukleinsäurebausteinen, vor allem zum Thymidin<sup>38)</sup>. Es ist allerdings ungefähr 10—30 000 mal wirksamer als Thymidin<sup>39)</sup>.

\*) Nach vor kurzem erfolgter Mitteilung<sup>32)</sup> entspricht der meist verwendete Stamm 8081 der American type culture collection nicht *Leuconostoc citrovorum*, sondern einem Vertreter von *Pediococcus cerevisiae*. Der Bedarf an Citrovorum-Faktor soll eine allgemeine Eigenschaft des Genus *Pediococcus* darstellen.

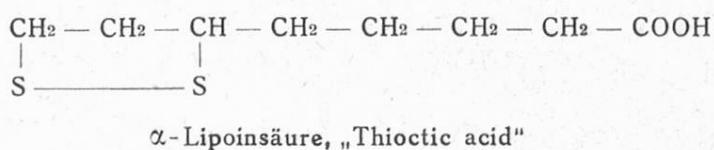
k) *Nukleinsäurebausteine*: Die Milchsäurebakterien benötigen normalerweise in den synthetischen Nährösungen auch Bausteine der Nukleinsäuren. Die Anforderungen sind von Organismus zu Organismus verschieden. Einzelne begnügen sich mit Purin- und Pyrimidinbasen, während andere deren Zuckerverbindungen (Nucleoside) oder die Verbindungen mit Zuckerphosphorsäuren (Nucleotide) bevorzugen. Der Bedarf an diesen Verbindungen steht ausserdem in Beziehung zu den vorhandenen Vitaminen, vor allem von p-Aminobenzoësäure, Folsäure und Vitamin B<sub>12</sub><sup>28</sup>).

Ein Stamm von *Lactobacillus bulgaricus* ist für sein Wachstum auf die schon früher als Milchbestandteil bekannt gewordene Orotsäure angewiesen. Diese kann auch ersetzt werden durch Ureidobernsteinsäure (Carbamyl-Asparaginsäure), die unter Ringschluss und Dehydrierung die genannte Uracilcarbonsäure liefert<sup>54</sup>).



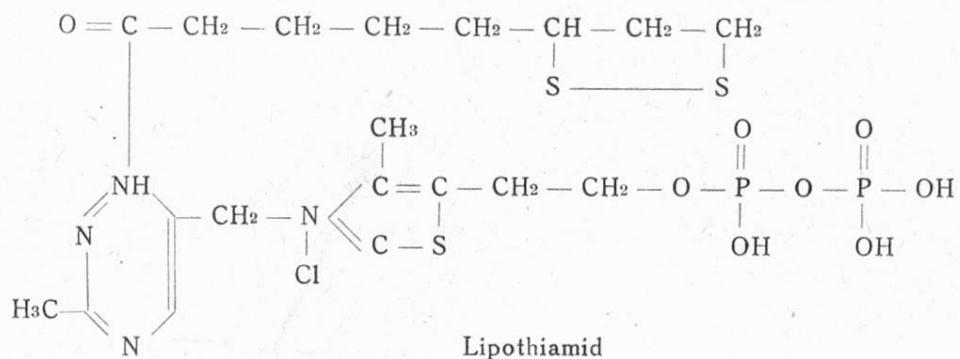
l) *Lipoinsäure*: Die synthetischen Nährösungen für die Milchsäurebakterien werden meistens nicht mit Zitrat oder Phosphat gepuffert, sondern mit Acetat. Dies hat seinen Grund vor allem darin, dass Acetat<sup>57</sup>) für die Milchsäurebakterien, wie auch für andere Mikroorganismen, unbedingt notwendig ist<sup>40</sup>). Es sind auch Fälle bekannt, in denen die Wirksamkeit von Hefeextrakt auf seinem Gehalt an Acetat beruhen soll<sup>41</sup>).

Neben dem Acetat wirkt auch der sogenannte *Acetat-Ersatz-Faktor*, der den Bedarf von verschiedenen Milchsäurebakterien an Acetat ersetzen kann<sup>42</sup>). Es handelt sich um eine Substanz, die von anderer Seite als für die Ernährung von Protozoen in synthetischen Nährösungen unbedingt notwendig erkannt und daher *Protopogen* genannt wurde<sup>43</sup>). Dieser Stoff spielt weiterhin eine Rolle bei der *Brenztraubensäure-Oxydation* durch *Streptococcus faecalis*. Zellen dieses Organismus, die in Abwesenheit des Faktors, der z. B. auch in Hefeextrakt enthalten ist, gewachsen sind, können wohl Glukose oxydieren, nicht aber Brenztraubensäure<sup>44</sup>). Es handelt sich bei dieser Substanz, die ausserdem bei der *Assimilation der Kohlensäure* durch die grünen Pflanzen eine wichtige Rolle spielt<sup>45</sup>), um eine schwefelhaltige Fettsäure, die dl-6,8-Di-Thiocaprylsäure<sup>55</sup>).



Die auch  $\alpha$ -Lipoinsäure oder «Thioctic acid» genannte Verbindung ist für einzelne Organismen, wie *Streptococcus cremoris*, nicht nur notwendig als Acetat-Ersatz, sondern auch in Gegenwart von Acetat<sup>46)</sup>.

Die Lipoinsäure soll vor allem in der Form eines Co-Enzyms mit Vitamin B1-Pyrophosphat, des Lipothiamids, wirken<sup>56)</sup>, doch scheint diese Annahme nicht allgemein anerkannt zu sein.



#### 10. Weitere für das Wachstum der Milchsäurebakterien wichtige Stoffe

- a) *Olsäure*: Auf die Bedeutung der Olsäure und ihren Zusammenhang mit dem Biotin wurde schon hingewiesen.
- b) *Kohlensäure*: Milchsäurebakterien können selbst auf reichen natürlichen Nährböden nicht gedeihen, wenn ihnen die Kohlensäure der Luft fehlt. Dies ist z.B. der Fall unter dem üblichen anaeroben Verschluss aus Pyrogallol und Natronlauge. Wenn statt Natronlauge Soda mit dem Pyrogallol gemischt wird, so erhält man ausgezeichnetes Wachstum der Milchsäurebakterien wie auch anderer Anaerobier<sup>47)</sup>.
- c) *Strepogenin*: Es betrifft einen Faktor, der als für das rasche Wachstum von pathogenen Streptokokken und *Lactobacillus casei* wichtig angesehen wird<sup>48)</sup>. Seine Zusammensetzung ist nicht bekannt. Offenbar handelt es sich um verschiedene Peptide. Auf die Gegenwart von Strepogenin wird die Überlegenheit enzymatischer Eiweisshydrolysate gegenüber den Säurehydrolysaten zurückgeführt, bei welch letzteren die Peptide gespalten sind und nur die freien Aminosäuren vorliegen. Verschiedene Eiweisststoffe und proteolytische Enzyme sind nicht gleichwertig in Bezug auf den Strepogeningehalt des entstehenden enzymatischen Hydrolysats<sup>49)</sup>. Nach neueren Untersuchungen soll der Strepogeningehalt auch in Beziehung stehen zur biologischen Wertigkeit der Proteine.

#### 11. Antagonistische Wirkungen zwischen den Aminosäuren

Bei einzelnen Aminosäuren können sich bei der Verwendung in synthetischen Nährösungen Wachstumshemmungen zeigen.

Relativ häufig besteht ein Antagonismus zwischen Serin und Threonin, die sich gegenseitig in einem relativ weiten Bereich stören. Bei *Streptococcus bovis* hindern Leucin, Isoleucin, Norleucin und Threonin das mit Arginin auftretende Wachstum. Dieser ungünstige Einfluss kann behoben werden durch den weiteren Zusatz von Valin, Glutaminsäure, Methionin oder Cystin. Der gegenseitige hindernde Einfluss von Phenylalanin und Tyrosin wird wieder aufgehoben durch den Zusatz von Tryptophan, Glutaminsäure oder Cystin<sup>50)</sup>.

## 12. *Ungelöste Probleme*

Aus den vorstehenden Darlegungen geht hervor, welche Stoffe sich als für die Ernährung der Milchsäurebakterien unbedingt notwendig erwiesen haben. Alle diese Substanzen sind in einem guten natürlichen Nährboden, wie z. B. Milch, in im allgemeinen für die Mikroorganismen vollauf genügender Menge enthalten. Demgemäß erhält man meist durch den Zusatz von Vitaminen zur Milch keine wesentliche Verbesserung des Wachstums.

Solche Förderungen sind aber möglich durch den Zusatz von Peptonen oder von Hefeextrakt, Leberauszügen, peptonisierter Milch oder durch kurzezeitige Behandlung der Milch mit proteolytischen Enzymen<sup>51)</sup>. Hier ist es im einzelnen nicht bekannt, welche Faktoren in diesen Zusätzen für die Verbesserung des Wachstums verantwortlich gemacht werden können.

Die deutliche Beschleunigung des Wachstums und der Säurebildung in Joghurt gegenüber derjenigen in den einzelnen Reinkulturen von *Streptococcus thermophilus* und *Lactobacillus bulgaricus* wird zurückgeführt auf die Förderung des *Streptococcus* durch vom Stäbchen gebildete Eiweissabbauprodukte. Unter diesen Stoffen soll vor allem Valin wirksam sein<sup>52)</sup>.

Die gegenseitige Förderung verschiedener Milchsäurebakterien wurde auch in synthetischen, von bestimmten Vitaminen und Aminosäuren freien Nährlösungen studiert. Hierbei ergab sich, dass richtiges Wachstum erst ermöglicht wird, wenn einer der Mikroorganismen zur Bildung der vom andern Organismus benötigten Vitamine oder Aminosäuren befähigt ist. Wenn solche Vitamine oder Aminosäuren fehlten, die von keinem der Organismen synthetisiert werden, trat auch kein richtiges Wachstum ein<sup>53)</sup>.

Sehr interessant wäre eine neuere Untersuchung über die Grundlagen der Symbiose beim Kefir. Hier gelang es bis jetzt noch nicht, richtigen Körner bildenden Kefir aus den Reinkulturen der Milchsäurebakterien und der Hefe zu erhalten.

Ungelöst ist weiterhin die Frage, warum sich *Lactobacillus acidophilus* in Mund und Darm ansiedelt, die Milchsäurebakterien des Joghurtes aber nicht. Es ist auch nicht bekannt, welche Stoffe im Hefeextrakt die Beschleunigung des Wachstums und der Säuerung beim Zusatz zur Milchkultur bewirken.

Oft bearbeitet, aber bei weitem nicht geklärt ist die Frage, warum Frauenmilch im Säuglingsdarm zur Entwicklung einer Bifidusflora führt, Kuhmilch

aber nicht. Die bis jetzt in der Literatur angegebenen Gründe vermögen nicht, den Vorgang überzeugend zu erklären.

Es wären aus den Gebieten der Mikrobiologie noch zahlreiche bis jetzt ungeklärte Probleme, die mit der Wirksamkeit von Ernährungsfaktoren zusammenhängen, anzuführen.

### 13. Rückblick

Wir sind heute über die Faktoren, die für Wachstum und Umsetzungen der in dieser Hinsicht am meisten untersuchten Milchsäurebakterien notwendig sind, relativ gut unterrichtet. Dies schliesst aber nicht aus, dass bei anderen, bis jetzt weniger bearbeiteten Milchsäurebakterien auch noch weitere Faktoren gefunden werden können. Weniger gut als über die eigentlichen Grundlagen der Ernährung der Milchsäurebakterien sind wir über die in den gewöhnlichen Laboratoriumsnährböden enthaltenen Stoffe und ihre Einwirkung unterrichtet.

Für die weitere Zukunft sind unter anderem Arbeiten zu erwarten über den Weg, auf dem sich der Aufbau der von den Organismen synthetisierten Stoffe vollzieht. Hier wird namentlich die Anwendung der Mutanten- und der Isotopentechnik weitere Einblicke eröffnen.

Es sollte versucht werden, Ihnen einen kleinen Überblick zu geben über die Stoffe, die die Grundlage für das gute Wachstum der Milchsäurebakterien bilden. Die Darstellung musste lückenhaft bleiben, da noch verschiedene andere Umstände von Bedeutung sind, auf die hier nicht eingegangen werden konnte.

### Literatur

- 1) *Bergey's Manual of determinative Bacteriology*. 6. Auflage 1948, Williams and Wilkins Co., Baltimore, Md.  
*C. S. Pederson*: *Bact. Rev.* **16**, 228-35 (1952).  
*J. M. Sherman*: *Bact. Rev.* **1**, 3-97 (1937).
- 2) *Y. Abd-el-Malek* und *T. Gibson*: *J. dairy Res.* **19**, 153-59 (1952).
- 3) *S. Orla-Jensen*: *The lactic acid bacteria* (Kopenhagen 1919), (Ergänzungsband 1943).
- 4) *D. M. Wheater, A. Hirsch* und *A.T. R. Mattick*: *Nature* **170**, 623-24 (1952).
- 5) *E. Wildiers*: *Cellule* **18**, 313 (1901).
- 6) *W. L. Miller*: *J. chem. Education* **7**, 257 (1930).  
*F. Kögl* und *B. Toennies*: *H. S. Zeitschr. physiol. Chem.* **242**, 43-73 (1936).
- 7) *J. G. Davis* und *A.T. R. Mattick*: *J. dairy Res.* **1**, 51-57, 136-48 (1930), **2**, 190-202 (1931).  
*J. G. Davis* und *J. Golding*: *Biochem. J.* **24**, 1503 (1930).
- 8) *S. Orla-Jensen, N. C. Otte* und *A. Snog-Kjaer*: *Zentralbl. Bakteriol. II. Abt.* **94**, 434-46, 447-52, 452-59, 460-77 (1936).
- 9) *M. N. Camien, M. S. Dunn* und *A. J. Salle*: *J. biol. Chem.* **168**, 33-42 (1947).
- 10) *H. D. Wright*: *J. Path. Bact.* **37**, 257 (1933), **42**, 31 (1936), **43**, 487 (1936).  
*W. Ritter*: *Schweiz. Ztschr. Pathol. Bakt.* **8**, 433-40 (1945).  
*N. Snell* und *J. C. Lewis*: *J. Bact.* **65**, 671-77 (1953).
- 11) *C. B. van Niel*: *Bact. Rev.* **8**, 225-34 (1944).
- 12) *L. R. Hac, E. E. Snell* und *R. J. Williams*: *J. biol. Chem.* **159**, 273-89 (1945).

- <sup>13)</sup> E. E. Snell: Wallerstein Laboratories Communications **11**, 81-104 (1948).  
 E. E. Snell: Bacterial Nutrition — Chemical Factors, in C. H. Werkman and P. W. Wilson: Bacterial Physiology, 1951, S. 214-55. New York, Academic Press Inc.  
 E. E. Snell: Bact. Rev. **16**, 235-41 (1952).  
 K. Schreier: Milchwissenschaft **7**, 10-14 (1952).
- <sup>14)</sup> E. E. Snell und B. M. Guirard: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. **29**, 66-73 (1943).
- <sup>15)</sup> R. A. McLeod: Arch. Biochem. **33**, 465-71 (1951).  
 H. Kihara, O. A. Klatt und E. E. Snell: J. biol. Chem. **197**, 801-07 (1952).
- <sup>16)</sup> R. A. McLeod und E. E. Snell: J. biol. Chem. **176**, 39-52 (1948).
- <sup>17)</sup> M. N. Camien und M. S. Dunn: Proc. Soc. exptl. Biol. Med. **81**, 564-66 (1952).  
 W. W. Meinke und B. R. Holland: J. biol. Chem. **184**, 251-57 (1950).  
 C. H. Eades und M. Womack: J. Bact. **65**, 322-25 (1953).
- <sup>18)</sup> D. W. Woolley: J. biol. Chem. **140**, 311-12 (1941).  
 O. G. Bentley, E. E. Snell und P. H. Phillips: J. biol. Chem. **170**, 343-50 (1947).
- <sup>19)</sup> R. A. McLeod: J. Bact. **62**, 337-45 (1951).  
 R. A. McLeod und E. E. Snell: J. biol. Chem. **170**, 351-65 (1947).
- <sup>20)</sup> W. W. Carlson, L. U. Farina und W. Whiteside-Carlson: J. dental Res. **31**, 634-38 (1952).
- <sup>21)</sup> E. E. Snell: Microbiological Methods in Vitamin-Research, in P. György: Vitamin-methods, 1951, New York, Academic Press Inc., S. 327-421.
- <sup>22)</sup> E. E. Snell und B. M. Guirard: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. **29**, 66-73 (1943).  
 M. L. Speck und D. A. Pitt: Science **106**, 420 (1947).  
 J. T. Holden, C. Furman und E. E. Snell: J. biol. Chem. **178**, 789-97 (1949).
- <sup>23)</sup> W. L. Williams, E. Hoff-Jørgensen und E. E. Snell: J. biol. Chem. **177**, 933-40 (1949).  
 R. A. McRorie und W. L. Williams: J. Bact. **61**, 737-45 (1951).  
 E. E. Snell, G. M. Brown, U. J. Peters, J. A. Craig, E. L. Wittle, J. A. Moore, U. M. McBlohon und O. D. Bird: J. Amer. Chem. Soc. **72**, 5349-50 (1950).
- <sup>24)</sup> F. Lipmann: Bact. Rev. **17**, 1-16 (1953).
- <sup>25)</sup> U. R. Williams und E. A. Fieger: J. biol. Chem. **170**, 399-411 (1947).  
 A. R. Whitehill, J. J. Oleson und Y. Subbarow: Arch. Biochem. **15**, 31-37 (1947).  
 A. E. Axelrod, M. Mitz und K. Hofmann: J. biol. Chem. **175**, 265-74 (1948).
- <sup>26)</sup> E. A. Andrews und U. R. Williams: J. biol. Chem. **193**, 11-12 (1951).
- <sup>27)</sup> H. P. Broquist und E. E. Snell: J. biol. Chem. **173**, 435-36 (1948).
- <sup>28)</sup> D. D. Woods: First International Symposium on Chemical Microbiology. World Health Organization, Monograph Series No. **10**, S. 35-57 (1952).  
 D. D. Woods: VI. Intern. Kongress für Mikrobiologie, Symposium 3: Nutrition and Growth Factors, 3-25 (1953), (Rom, Istituto superiore di Sanità).
- <sup>29)</sup> H. E. Sauberlich und C. A. Baumann: J. biol. Chem. **176**, 165-73 (1948).  
 T. J. Bond, T. J. Bardos, M. Sibley und W. Shive: J. Am. Chem. Soc. **71**, 3852-53 (1949).  
 H. P. Broquist, E. L. R. Stokstad und T. H. Jukes: J. biol. Chem. **185**, 399-409 (1950).
- <sup>30)</sup> W. Shive, T. J. Bardos, T. J. Bond und L. L. Rogers: J. Am. Chem. Soc. **72**, 2817-18 (1950).  
 J. A. Brockman jr., B. Roth, H. P. Broquist, M. E. Hultquist, J. M. Smith jr., M. J. Fahrenbach, D. B. Cosulich, R. P. Parker, E. L. R. Stokstad und T. H. Jukes: J. Am. Chem. Soc. **72**, 4325-26 (1950).

- M. May, T. J. Bardos, F. L. Barger, M. Lansford, J. M. Ravel, G. Sutherland und W. Shive: J. Amer. Chem. Soc. **73**, 3067-75 (1951).*
- A. Pohland, E. H. Flynn, R. S. Jones und W. Shive: J. Amer. Chem. Soc. **73**, 3247-52 (1951).*
- D. B. Cosulich, B. Roth, J. M. Smith jr., M. E. Hultquist und R. P. Parker: J. Am. Chem. Soc. **74**, 3252-62 (1952).*
- <sup>31)</sup> *H. P. Broquist, J. A. Brockman jr., M. J. Fahrenbach, E. L. R. Stokstad und T. H. Jukes: J. Nutrition **47**, 93-103 (1952).*
- H. P. Broquist: VI. Intern. Kongress für Mikrobiologie, Symposium 3: Nutrition and Growth Factors, 62-74 (1953), (Rom, Istituto superiore di Sanità).*
- <sup>32)</sup> *E. A. Felton und C. A. Niven jr.: J. Bact. **65**, 482-83 (1953).*
- <sup>33)</sup> *S. C. Chang, M. Silverman und I. C. Keresztesy: J. Bact. **62**, 753-62 (1951).*
- <sup>34)</sup> *H. P. Sarett: Arch. bioch. **34**, 378-90 (1951).*
- H. P. Broquist, A. R. Kohler, D. J. Hutchinson und J. H. Burchenal: J. biol. Chem. **202**, 59-66 (1953).*
- <sup>35)</sup> *A. Leviton und R. E. Hargrove: Ind. Eng. Chem. **44**, 2651-55 (1952).*
- <sup>36)</sup> *M. S. Shorb: J. biol. Chem. **169**, 455-56 (1947), J. Bact. **53**, 669 (1947).*
- <sup>37)</sup> *W. F. J. Cuthbertson und J. T. Lloyd: J. Gen. Microbiol. **5**, 416-20 (1951).*
- U. Kocher: Intern. Z. Vit. forsch. **20**, 369-74 (1949).*
- <sup>38)</sup> *H. R. Skeggs, J. W. Huff, L. D. Wright und D. K. Bosshardt: J. biol. Chem. **176**, 1459-60 (1948).*
- W. Shive, J. M. Ravel und R. E. Eakin: J. Amer. Chem. Soc. **70**, 2614-15 (1948).*
- U. Kocher und O. Schindler: Intern. Z. Vit. forsch. **20**, 441-43 (1949).*
- E. E. Snell, E. Kitay und W. S. McNutt: J. biol. Chem. **175**, 473-74 (1948).*
- <sup>39)</sup> *W. Shive, M. E. Sibley und L. L. Rogers: J. Amer. Chem. Soc. **73**, 867-68 (1951).*
- <sup>40)</sup> *B. M. Guirard, E. E. Snell und R. J. Williams: Arch. Biochem. **9**, 361-79 (1946).*
- <sup>41)</sup> *J. U. Bhat und H. A. Barker: J. Bact. **54**, 381-91 (1947).*
- <sup>42)</sup> *B. M. Guirard, E. E. Snell und R. J. Williams: Arch. Biochem. **9**, 381-86 (1946).*
- <sup>43)</sup> *U. C. Dewey: Proc. Soc. exper. Biol. Med. **46**, 482-84 (1941).*
- U. C. Dewey: Biol. Bull. **87**, 107-20 (1944).*
- G. W. Kidder und U. C. Dewey: Biol. Bull. **87**, 121-33 (1944).*
- G. W. Kidder und U. C. Dewey: Arch. Bioch. **6**, 425-32 (1945), **8**, 293-301 (1945).*
- E. L. R. Stokstad, C. E. Hoffmann, M. Regan, D. Fordham und T. H. Jukes: Arch. Biochem. **20**, 75-82 (1949).*
- G. W. Kidder: VI. Intern. Kongress für Mikrobiologie, Symposium 3: Nutrition and Growth Factors, 44-61 (1953), (Rom, Istituto superiore di Sanità).*
- <sup>44)</sup> *D. J. O'Kane und J. C. Gunsalus: J. Bact. **56**, 499-506 (1948).*
- J. C. Gunsalus, M. I. Dolin und L. Sruiglia: J. biol. Chem. **194**, 849-57 (1952).*
- U. C. Dewey und G. W. Kidder: Proc. Soc. exper. Biol. Med. **80**, 302-06 (1952).*
- <sup>45)</sup> *M. Calvin und P. Massini: Experientia **8**, 445-57 (1952).*
- M. Calvin: Chem. Eng. News **30**, 5152, 5154 (1952), **31**, 1622-25, 1735-38 (1953).*
- <sup>46)</sup> *E. L. R. Stokstad, C. E. Hoffmann und M. Belt: Proc. Soc. exper. Biol. Med. **74**, 571-73 (1950).*
- L. Kline und H. A. Barker: J. Bact. **60**, 349-63 (1950).*
- U. L. Lytle und D. J. O'Kane: J. Bact. **61**, 240-41 (1951).*
- L. Kline, L. Pyne, J. C. Gunsalus und H. A. Barker: J. Bact. **64**, 467-72 (1952).*
- <sup>47)</sup> *W. Ritter und W. Dorner: Zentralblatt Bakteriologie I. Abt. **125**, 379-83 (1952).*
- W. Dorner und W. Ritter: Lait **13**, 366-68 (1933).*

- <sup>48)</sup> *H. Sprince und D. W. Woolley*: *J. exper. Med.* **80**, 213-17 (1944).  
*D. W. Woolley*: *J. biol. Chem.* **162**, 383 (1946).
- <sup>49)</sup> *W. Karrer und H. Pfaltz*: *Helv. chim. acta* **34**, 2225-30 (1951).  
*K. Krishnamurthy*: *Indian J. Physiol. Allied Sci.* **6**, 107-11 (1952).
- <sup>50)</sup> *M. R. Washburn und C. F. Niven jr.*: *J. Bact.* **55**, 769-76 (1948).
- <sup>51)</sup> *A. W. Anderson und P. R. Elliker*: *J. dairy Sci.* **36**, 161-67, 608-13 (1953).
- <sup>52)</sup> *J. W. Pette und H. Lolkema*: *Netherl. Milk dairy J.* **4**, 197-208, 209-24, 261-73 (1950), **5**, 14-26, 27-45 (1951).  
*J. G. Davis*: *Food* **21**, 249, 284 (1952).
- <sup>53)</sup> *U. Nurmikko*: *Acta chem. scand.* **6**, 1258-64 (1952).  
*U. Nurmikko*: VI. Intern. Kongress für Mikrobiologie. Symposium 3: Nutrition and Growth Factors, S. 97-112 (1953), (Rom, Istituto superiore di Sanità).
- <sup>54)</sup> *L. D. Wright, J. W. Huff, H. R. Skeggs, K. A. Valentik und D. K. Bosshardt*: *J. Amer. Chem. Soc.* **72**, 2312-13 (1950).  
*L. D. Wright, K. A. Valentik, D. S. Spicer, J. W. Huff und H. R. Skeggs*: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **75**, 293-97, 297-99 (1950).  
*L. D. Wright, C. S. Miller, H. R. Skeggs, J. W. Huff, L. L. Weed und D. W. Wilson*: *J. Amer. Chem. Soc.* **73**, 1898-99 (1951).
- <sup>55)</sup> *J. A. Brockman jr., E. L. R. Stokstad, E. L. Patterson, J. U. Pierce, M. Macchi und F. P. Day*: *J. Amer. Chem. Soc.* **74**, 1868 (1952).  
*L. J. Reed, B. G. DeBusk, J. C. Gunsalus und G. H. F. Schnakenberg*: *J. Amer. Chem. Soc.* **73**, 5919-20 (1951).  
*L. J. Reed, Q. F. Soper, G. H. F. Schnakenberg, S. F. Kern, H. Boaz und J. C. Gunsalus*: *J. Amer. Chem. Soc.* **74**, 2383-84 (1952).  
*M. W. Bullock, J. A. Brockman jr., E. L. Patterson, J. U. Pierce und E. L. R. Stockstad*: *J. Amer. Chem. Soc.* **74**, 3455 (1952).
- <sup>56)</sup> *L. J. Reed und B. G. DeBusk*: *J. Biol. Chem.* **190**, 881 (1952).
- <sup>57)</sup> *E. B. Collins, F. E. Nelson und C. E. Parmelee*: *J. Bact.* **59**, 69-74 (1950).
- <sup>58)</sup> *W. Ritter*: VI. Intern. Kongress für Mikrobiologie, Symposium 3: Nutrition and Growth Factors, S. 157-83 (1953), (Rom, Istituto superiore di Sanità).
- <sup>59)</sup> *E. E. Snell*: *Wallerstein Laboratories Communications* **11**, 81-104 (1948).  
*E. E. Snell*: *Bacterial Nutrition — Chemical Factors*, in *C. H. Werkman und P. W. Wilson*: *Bacterial Physiology* S. 214-55 (1951). New York, Academic Press Inc.  
*E. E. Snell*: *Bact. Rev.* **16**, 235-41 (1952).  
*J. Schormüller*: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **88**, 408-36 (1948).  
*F. E. Möller*: *Milchwissenschaft* **5**, 408-36 (1948).

## Diskussion

*Frage Högl*: Ist es richtig, dass Silomilch nach Kuhn-Heidelberg durch Mangel an p-Aminobenzoësäure ungünstig auf die Entwicklung von Milchsäurebakterien wirkt?

*Antwort*: Diese Ansicht ist unrichtig. Silomilch büsst an Qualität nur ein infolge Gegenwart von Buttersäurebazillen (Blähung der Käse).

## Kurzreferate

S. Hoffmann, St.Gallen:

### Einige Untersuchungen und Überlegungen zum Coliproblem

Das Studium der einschlägigen Literatur wie der Schweiz. med. Wochenschrift, der Ars Medici, des Zentralblattes für Bakteriologie, des Zentralblattes für Hygiene u.a.m. führt zur überraschenden Feststellung, dass praktisch nie von Erkrankungen coligenen Ursprungs die Rede ist. Auch im spezifisch medizinischen Schrifttum über Rohkost- und Rohsäftediät, so von Altmeister Bircher-Benner, Dr. med. Heun, Prof. Heupke, Dr. med. Müller-Gland u.a., finden wir keine Hinweise auf die Möglichkeit einer Coli-Infektion. Sodann haben Untersuchungen mit verschiedenen Kinderärzten ergeben, dass für sie, sofern es sich um Kinder über einem Lebensjahr handelt, ein Coliproblem praktisch ebenfalls nicht existiert.

Einen ganz andern Aspekt erhalten wir nun aber aus Zeitschriften der Kinderheilkunde. Hier stossen wir häufig auf Abhandlungen über die *Säuglingsenteritis*. Die Nomenklatur dieser gefürchteten Kleinkinderkrankheit ist unterschiedlich, liest man doch auch häufig von Sommerdiarrhoe, Brechdurchfall und Gastroenteritis. *Kaufmann* benennt sie Säuglingsenteritis, und da auch andere Enteritisserkrankungen möglich sind, möchte er sie als *Coli-Enteritis* bezeichnet wissen. Wie ihr Name schon sagt, ist sie coligenen Ursprungs und befällt sozusagen ausschliesslich Kinder im eigentlichen Säuglingsalter. Die Bösartigkeit der Krankheit geht aus der Tatsache hervor, dass die Sterblichkeit 50—80 % betrug. Dank der modernen Antibiotica wie Aureomycin, Chloromycin u.a. stehen dem Arzt heute allerdings wirksame Heilmittel zur Verfügung. Das *Krankheitsbild* ist gekennzeichnet durch eine lymphogene Sepsis der Abdominalorgane, verbunden mit seröser Entzündung der Dünndarmschleimhaut und einer Verfettung des Leberparenchyms und der Nieren. Äusserliche Symptome sind Gewichtsstürze, Fieber, Erbrechen, starke Durchfälle, Benommenheit und Apathie.

Es kommt *Adam* das Verdienst zu, in diesem Zusammenhang als erster auf die Pathogenität gewisser Colistämme hingewiesen zu haben. Er war jedoch überzeugt, dass vorerst ein neurovegetatives Trauma bestehe, und dass erst sekundär der Infektion eine Bedeutung zukomme. *Martischnig* u.a. glauben an ein Pathogenwerden sonst apathogener Colistämme. Andere Forscher wiederum, wie *Jürgensen* und *Berger*, sind der Auffassung, dass der jeweiligen Darmflora lediglich die Bedeutung «sekundärer Erreger» zukomme, und dass in erster Linie ein unbekanntes Virus in Frage stehe. Verschiedenen anglo-amerikanischen Wissenschaftern und *Adam* gelang es dann allerdings, aus Enteritisstühlen verschiedene pathogene Colistämme (B. coli var. neapolitanum, B. coli D 433 B.G.T., Dyspepsiecoli A1) zu isolieren. *Kauffmann* hat diese anscheinend unterschiedlichen Colistämme serologisch differenziert und begrenzt, wobei sich erstens

herausstellte, dass sie auf 2 Typen zurückgeführt werden können, nämlich auf die Stämme 111 B4 und 55 B5, und zweitens, dass sie nur bei Säuglingen pathogen wirken.

Da das *B. coli* ubiquitär ist und auch die Nahrungsmittel verhältnismässig häufig colioinfiziert sind, wird als selbstverständlich vorausgesetzt, dass die Coli-infektion alimentären Ursprungs ist. Dass dies zumindest bei der Säuglings-enteritis nicht zutrifft, beweist der Umstand, dass die Krankheit in den allerersten Lebensmonaten auftritt, zu einem Zeitpunkt also, da das Kleinkind mit Muttermilch (Brustmilchkinder sind allerdings nur selten enteritisanfällig) oder mit gekochter Kuhmilch ernährt wird. *Kauffmann* u.a. weisen denn auch darauf hin, dass die Erreger in der Rachen- und Nasenschleimhaut nachweisbar sind, die Infektion also von der Nase oder dem Mund ausgehe. Wie bei zahlreichen andern Infektionskrankheiten, dürfte auch hier eine Tröpfcheninfektion wahrscheinlich sein. Diese These ist durch eine diesen Sommer im Kanton St. Gallen ausgebrochene kleinere Enteritisepidemie erhärtet worden. Es traten zerstreut über den Kanton 25 Fälle auf, wobei sich nirgends Anhaltspunkte ergaben, dass die Milch oder das Wasser als Infektionsquellen in Frage kommen könnten. Hingegen war es möglich, den Erreger — ausschliesslich Stamm 111 B4 — im Rachenschleim grösserer Geschwister nachzuweisen. Auch im Frühgeburtenzimmer des Kinder-spitals traten zwei Erkrankungen auf, wobei eine Pflegerin als Keimträgerin festgestellt wurde. Der leitende Arzt ist überzeugt, dass dem eigentlichen Krankheitsgeschehen ein Ernährungstrauma, das eine chemisch-enzymatische Milieu-änderung im Darm hervorufen könne, oder eine grippöse Infektion vorausgehe.

Es ist hier bereits erwähnt worden, dass Brustmilchkinder selten an akuter Enteritis erkranken. Dieses auffallende Faktum ist nach *Feer*, *Boehm* u.a. auf die Bifidum-darmflora solcher Kinder zurückzuführen, die dort in Reinkultur vorhanden ist und sich stark hemmend auf *B. coli* auswirkt. Nach dem Abstillen entwickelt sich dann aber eine Mischkultur, in der Keime der Coligruppe stark überwiegen. Bei Kindern, die der Muttermilch entbehren müssen, nistet sich *B. coli* unmittelbar nach der Geburt ein und bleibt dort zeitlebens dominierend. *Boehm* ist nun der Auffassung, «dass sich bei jeder ausgeprägten Coliflora einige pathogene Keime befinden, die unter günstigen Bedingungen zu wachsen beginnen und im Extremfall das schwere Krankheitsbild der Intoxikation hervorrufen». Wir haben uns somit mit der Tatsache abzufinden, dass das *B. coli* sozusagen als Damoklesschwert in unseren Eingeweiden lebt und je nach Umständen seine Pathogenität entfalten kann. Daraus ergibt sich nun aber die interessante und entscheidende Frage nach der *Ursache des Pathogenwerdens*.

*Roemheld* weist in bezug auf die Bazillenruhr (*B. dysenteriae* Shiga-Kruse) darauf hin, dass ein spezifisches «Ruhrmilieu» als Wegbereiter für das Wirksamwerden der Infektion Bedingung sei. Ein solches «Milieu» scheint auch für das Pathogenwerden des Coli notwendig zu sein. *Kauffmann* schreibt in diesem Zusammenhang von «besondern dispositionellen Momenten». Bereits erwähnt wurde hier auch, dass Ernährungs- oder neurovegetative Traumata, ferner primäre Er-

krankungen durch andere Infektionserreger milieubereitend seien. *Kästli* hat sodann die Meinung vertreten, dass eine «katarrhalische Reizung der Darmschleimhaut eine Virulenzsteigerung der Colibakterien zur Folge haben könne. Andere Autoren konstatierten, dass das Eingeben von Medikamenten das Virulentwerden saprophytischer Coli auslösen kann. Bei der Katze soll Pflanzenkost eine Steigerung der Virulenz, Milch dagegen eine Schwächung bewirken. — Das sind einige, leider nur vage, Hinweise in bezug auf das Pathogenwerden.

Und nun befassen wir uns abschliessend mit dem *ubiquitären Vorkommen* der coliformen Gruppe. Hier wurde bereits erwähnt, dass das Coli in erster Linie als Darmbesiedler bekannt ist. Es ist aber auch in vielen Böden und auf zahlreichen Lebensmitteln heimisch und wird auf Fliegen wie auch in Badewasser angetroffen. In der Lebensmittelbakteriologie spielte es lange Zeit ausschliesslich bei der Wasserkontrolle eine Rolle, und zwar als Indikator für fäkale Verunreinigungen. Im Laufe der Zeit wurden nun aber die Befürchtungen, die man in bezug auf einen positiven Wasser-Colititer hegt, auch auf verschiedene Lebensmittel wie Milch und Milchprodukte, Speiseeis und in neuester Zeit auf Obst und Gemüse und deren Säfte übertragen. Es sind im Laboratorium des Referenten seit einigen Jahren verschiedene Lebensmittel, ferner Fliegen und Badewässer auf das Vorkommen coliformer Gruppen untersucht worden. Einige der Ergebnisse gehen aus den nachstehenden Tabellen hervor:

*Tabelle 1*

	Anzahl Proben	Positiver Colititer %
Konsummilch	2000	18,0
Wurstbrät	5	100,0
Speiseeis 1947	109	47,8
Speiseeis 1953	82	41,4

Bei der *Konsummilch* ist zu bemerken, dass die 18,0 % als Jahresdurchschnitt zu betrachten sind. Im Sommer reagieren wesentlich mehr Milchproben coliposativ. Interessant ist in diesem Zusammenhange eine Mitteilung *Adams*, dass in 150 in der Kinderklinik in Erlangen untersuchten Rohmilchproben keine Dyspepsiecoli festgestellt werden konnten. Beim *Brät* liesse sich einwenden, dass dieses in der Wurst erhitzt und eventuell geräuchert werde. Nun soll aber, nach Auffassung verschiedener Forscher, das Colitoxin hitzeresistent sein, so dass sich Vergiftungserscheinungen gegebenenfalls auch hier feststellen lassen müssten. Das *Speiseeis* ist ein klassisches Beispiel für die Schwierigkeit, *B. coli* auch einem sauber geführten Betrieb fernzuhalten zu können. Wir fanden diesen Mikroorganismus wiederholt auch in Speiseeis, das mit gekochter Milch und pasteurisiertem Rahm hergestellt worden ist. Nach eigenen früheren Untersuchungen enthalten die übrigen Glacezutaten ausgesprochen wenig Keime und nie Coli.

In der folgenden Tabelle werden die Resultate von über 400 mikrobiologisch untersuchten Gemüse- und Obstproben wiedergegeben:

Tabelle 2

	Anzahl Proben	Positiver Colititer %
Äpfel, Birnen	97	0
Trauben	28	7,1
Steinfrüchte	29	3,4
Beeren	96	2,0
Kirschen	49	2,0
Kabis/Kohl	10	0
Salat	11	54,5
Spinat	7	14,3
Karotten	26	73,0
Karotten ungedüngt	4	100,0
Tomaten	59	23,7

Die betreffenden Früchte und Gemüse sind entweder direkt gepflückt oder vom Markt erhoben worden. Die Früchte scheinen ganz allgemein — insbesondere aber die Äpfel und Birnen! — nicht günstig für die Entwicklung coliformer Keime zu sein. Interessant ist, dass selbst erheblich mit Erde verschmutzte Erdbeeren nicht coli positiv reagierten. Anders liegen die Verhältnisse beim Gemüse. Bei den kopfbildenden Sorten (Kohl, Kabis, Salat) liess sich *B. coli* zwar nur im Salat wiederholt nachweisen. Hohe Titer weisen die gewaschenen Karotten auf, und zwar auch dann, wenn diese auf Boden gewachsen sind, der seit über einem Jahrzehnt nie mit Mist oder Jauche (d.h. biologisch) gedüngt worden ist. Eine analoge Feststellung liess sich auch bei Salat machen.

Ausser den Lebensmitteln wurden 1947 rund 3000 Fliegen kulturell untersucht:

Tabelle 3

	Positiver Colititer %
Stubenfliegen ( <i>Musca domestica</i> )	10,9
Schmeissfliegen ( <i>Calliphora vomitoria</i> )	24,5
Fleischfliegen ( <i>Sarcophaga carnaria</i> )	18,3
Fliegenfaeces	29,0

Aus dieser Tabelle geht hervor, dass es nicht an Gelegenheit zur Kontaktnahme mit *B. coli* fehlt. Falls es gelingen sollte, unsere sämtlichen Lebensmittel colifrei zu bekommen, so sind immer wieder Infektionen durch Fliegen möglich. Dabei ist zu bedenken, dass diese einerseits mit Vorliebe tierische und mensch-

liche Faeces, anderseits aber auch wieder unsere Lebensmittel befliegen. Dass auch das Fluss- und Seebadewasser zumeist reichlich *B. coli* enthält, haben unsere eigenen Untersuchungen und solche anderer Autoren ebenfalls bewiesen.

### *Zusammenfassung*

1. Alle Colistämme sind bedingt pathogen; durch Einwirken sekundärer Faktoren können sie virulent werden.
2. Ihre Pathogenität kommt in erster Linie bei der Säuglingsenteritis zum Ausdruck. Die Infektion ist hier nicht alimentären Ursprungs.
3. Bei älteren Kindern und bei Erwachsenen spielen coligene Erkrankungen eine untergeordnete Rolle.
4. *B. coli* besiedelt die Verdauungsorgane unmittelbar nach der Geburt bzw. nach dem Abstillen und dominiert zeitlebens in der Darmflora.
5. *B. coli* ist ubiquitär und kann zum Beispiel in den verschiedensten Lebensmitteln, an Fliegen, in Fluss- und Seebadewasser nachgewiesen werden.

### *Schlussfolgerungen*

Gestützt auf die angeführten Argumente betrachtet es der Referent als richtig, den Colititer auch zukünftig in der allgemeinen Lebensmittelbakteriologie als Maßstab für die mikrobiologische Verunreinigung, analog der allgemeinen Keimzahl, auszuwerten.

Fraglich ist hingegen, ob einem positiven Titer eine hygienische Bedeutung zukomme, und zwar im Sinne einer erhöhten Infektionsgefahr.

### *Literatur*

- F. Kauffmann:* Wiener med. Wschr. 101 (1951).  
*A. Adam:* Sixième Congrès international de pédiatrie; Résumés des Communications.  
*E. Feer:* Volume Jubilaire Louis E. C. Dapples 181 (1937).  
*E. Martischnig:* Jahrbuch für Kinderheilkunde 3 (1952).  
*B. Boehm:* Milchwissenschaft 7 (1952).  
*L. Roemheld:* Die Bazillenruhr 1949. Verlag Thieme.  
*P. Kästli:* Schweiz. Zentralblatt für Milchwirtschaft 4 (1951).  
*P. Kästli,* Verhandlungen, XIII. Internat. Milchwirtschaftskongr., Haag, II, 27 (1953).  
*Lehmann-Neumann:* Bakteriologische Diagnostik 435 (1927).  
*A. Adam:* Z. Lebensmittel-Unters. und Forsch. 4, 267 (Sitzungsberichte) (1952).  
*S. Hoffmann,* Mitt. 1, 64 (1947).  
*S. Hoffmann,* Mitt. 1/2, 189 (1950).

### *Diskussion*

*Frage Wyler:* Wyler ersucht um Aufklärung, weshalb gedüngte Karotten nur in 73 %, ungedüngte dagegen in 100 % der Fälle positiven Colibefund ergeben. Die Abklärung im Hinblick auf gewisse Anbautheorien ist wichtig.

*Antwort:* Eine stichhaltige Erklärung dieser Erscheinung ist nicht möglich.

*Bemerkung O. Kleinert:* Möglicherweise Fehlschluss, weil viel zu wenig breite Untersuchungsbasis.

*Frage R. Walser:* Wann wurden diese niedrigen Colititer in der Rohmilch gefunden? Bestimmt sind doch grosse jahreszeitliche Schwankungen vorhanden?

*Antwort:* Sommer- und Wintermilch wurden nicht ausgeschieden. Erstere ist meist colireicher.

Dr. O. Thomann, Zürich:

### **Das Membranfilter in der Wasserbakteriologie**

Für die hygienische Beurteilung von Trinkwasser ist der Colibefund von grosser Bedeutung. Sofern das zu untersuchende Wasser stärker verunreinigt ist, lassen sich die Colibakterien leicht feststellen mittels Endoagar-Gusskulturen unter Aussaat von 1 und 5 cm<sup>3</sup>. Anders sieht es aus, wenn grössere Wassermengen zur Anwendung gelangen müssen, in Fällen also, wo es sich um einwandfreies oder nur leicht verunreinigtes Trinkwasser handelt. Dies konnte bis anhin lediglich mit flüssigen Substraten geschehen, den sogenannten Anreicherungskulturen. Unter den üblichen Nährflüssigkeiten existiert jedoch keine, welche für die Species *Escherichia coli* allein spezifisch wäre, sondern auch verwandte Keimarten vermögen sich darin zu entwickeln und Gas zu bilden. Selbst die Annahme, eine erhöhte Bebrütungstemperatur schliesse das Wachstum solcher unerwünschter Keime aus, hat sich als trügerisch erwiesen. Aus diesem Grunde wurde das Ausstrichverfahren entwickelt, um an Hand des Koloniebildes zu diagnostizieren, analog dem direkten Gusskulturverfahren. Colikeime ergeben auf Endoagar eine typische Erscheinungsform, welche sich durch eine intensiv dunkelrot gefärbte Kolonie äussert, umgeben von einem diffus rot gefärbten Säurehof. Bei oberflächlicher Lage ergibt sich im auffallenden Licht meist ein charakteristischer Metallglanz. Dieser Sachverhalt findet beim Membranfilter nutzbare Anwendung. Ursprünglich hatte das Membranfilter hauptsächlich der Herstellung keimfreier Flüssigkeiten gedient. Kraft der kleinen Porengröße — für das Filter Coli 5 wird sie im Durchschnitt mit 1,2 mü angegeben<sup>1)</sup> — werden die Bakterien auf der Filteroberfläche zurückgehalten. Die Poren sind jedoch gross genug, um Nährstoffe durchdiffundieren zu lassen. Durch Auflegen der Filter auf einen erstarrten Nährboden lassen sich die auf der Oberfläche zurückgehaltenen Keime kultivieren wie bei Gusskulturen. Ist dieses Substrat ein Endoagar, können somit die Colibakterien bestimmt werden. Im Gegensatz zur Titermethode resultiert hier eine feste Zahl. Auch auf dem Filter erhalten wir die typische, vorhin geschilderte Erscheinungsform. Nach 18—24 Stunden Bebrütung können die Filter vom Nährsubstrat abgehoben, getrocknet und zu Belegzwecken aufbewahrt werden.

Mit dieser Schilderung sind einige Vorteile des Membranfilterverfahrens bereits aufgezeichnet. Ein weiterer liegt darin, als die zu prüfende Wassermenge beliebig gross gewählt werden kann. Eigentlich wäre letzteres auch beim Titer-

system durchführbar, jedoch mit grossem Materialverbrauch und grossen Platzansprüchen bei der Bebrütung verbunden. Hier beim Membranfilter bleibt es sich gleich, ob wir 20 oder 1000 cm<sup>3</sup> wählen.

Von künstlich aufbereitetem Trinkwasser wird gemäss Lebensmittelbuch Colifreiheit gefordert. Dieser Zustand wird um so besser statuiert, je grösser die geprüfte Wassermenge ist. Mit der Wahl einer grossen Wassermenge steigt auch die Wahrscheinlichkeit, in verdächtigen Wässern eventuelle pathogene Keime aus der Salmonellagruppe nachweisen zu können. Als Nährsubstrat für den Nachweis von Typhus- und Paratyphuserregern erwähnt *Beger* den Wismutsulfit-agar.

Das Membranfilterverfahren ist in Deutschland schon weit verbreitet und sehr geschätzt. Aus dem Pasteur-Institut liegt eine neue anerkennende Abhandlung<sup>2)</sup> vor. Es wurde dort allerdings der Endoagar nicht als geeignet befunden und dem Bromthymolblauagar mit besonderen Zusätzen der Vorzug gegeben. Ebenso wird die Bebrütungstemperatur von 44° C gegenüber 37° C als günstiger angesehen. In der Schweiz wird in letzter Zeit auch mit Membranfiltern gearbeitet. Seit der Anschaffung des Filtrationsapparates in unserem Zürcher Laboratorium sind einige Versuche durchgeführt und 223 reguläre Trinkwasserproben untersucht worden. Im Vergleich zum Membranfilterverfahren hat sich die von mir beschriebene Titermethode als ausreichend erwiesen. Fälle, wo Colibakterien die Fähigkeit der Laktosespaltung auf Grund irgendwelcher Umweltseinflüsse verloren haben, können sich allerdings bei Anreicherungskulturen nachteilig auswirken. An Hand der üblichen Verdünnungsreihe wurde ferner das Membranfilter mit den Gusskulturen verglichen, ohne aber einen praktischen Unterschied zu finden, wenigstens zahlenmässig. Immerhin trat beim Filterverfahren ein Verhalten in Erscheinung, welches Erwähnung verdient. Bei starker Keimkonzentration — es geht bei diesen Untersuchungen immer um den Colinachweis auf Endoagar — kommen die einzelnen Kolonien nicht mehr typisch zum Ausdruck. Von der intensiven Färbung ist kaum etwas zu sehen, obwohl das Testobjekt eine Colisuspension war. Kommen noch andere Keime hinzu, wie das bei schlechtem Wasser der Fall ist, dann bleibt überhaupt alles verschwommen. Eosinmethyleneblauagar verhält sich in dieser Beziehung günstiger. Die einzelnen Kolonien sind dann aber sehr klein und schwerlich zu diagnostischen Zwecken geeignet. Besser schneiden hier die Gusskulturen ab. Das ist nicht verwunderlich, wenn wir die Flächenverhältnisse vergleichen. Einer gleichen Keimkonzentration stehen beim Membranfilter nur ca. 9,2 cm<sup>2</sup> zur Verfügung gegenüber ca. 63 cm<sup>2</sup> bei der Petrischale. Dementsprechend ist auch das Nährstoffangebot. Schliesslich wurden sowohl bei den Gusskulturen als auch den Membranfiltern zwei Bebrütungstemperaturen angewandt, 37 und 44° C. Im Gegensatz zum Pasteur-Institut erhielt ich bei 37° C eher eine höhere Colizahl als bei 44° C, was mich veranlasst, nach wie vor an 37° C festzuhalten.

Wir kommen nun zur eigentlichen Trinkwasserkontrolle und müssen dabei eingedenk sein, dass uns 1. die bakteriologische Beschaffenheit des zu unter-

suchenden Wassers nicht bekannt ist und 2. dass es sich um Serienuntersuchungen handelt, wo es auf den Zeitaufwand ankommt. Man kann die Sache einfach gestalten, indem man sich auf das für die Anforderungen normierte Wasserquantum beschränkt. Das gibt auf alle Fälle einen Befund ab, bei schlechtem Wasser aber keinen klaren. Der Sinn des Membranfilterverfahrens ist aber gerade der, eine feste Colizahl zu erhalten. Um den richtigen Rahmen, gewissermassen nach oben und nach unten, zu finden, wurde wie folgt vorgegangen. Von jeder Probe wurden zwei Endoagar-Gusskulturen hergestellt, eine mit 5, die andere mit 1 cm<sup>3</sup> Wasser beschickt. Für das Filter wurden entweder Mengen von 50 cm<sup>3</sup> oder 20 und 100 cm<sup>3</sup> gewählt. Handelt es sich um ein gutes Wasser, dann sind auf dem Filter keine Coli oder bei leicht verunreinigtem Wasser Coli in beschränkter Zahl vorhanden, während die Gusskulturen negativ bleiben. Ist das Wasser stärker verunreinigt, dann sprechen auch die Gusskulturen an. Pro 1 cm<sup>3</sup> lassen sich an Hand der Gusskultur immerhin bis zu 200 Coli noch zahlenmässig erfassen. Solche Fälle gibt es nämlich in der Praxis. Auf dem Membranfilter müsste bei 20 cm<sup>3</sup> rechnerisch eine Colizahl von 4000 resultieren, was aber ohne Verdünnung unmöglich nachweisbar ist. Die Gusskultur hat hier also einen sehr wesentlichen Vorzug.

Der Überblick über die untersuchten Trinkwasserproben zeigt uns indes folgendes: In ungefähr 10 % ergaben die Membranfilter eine höhere Colizahl als die Gusskulturen, in 21 % war es umgekehrt, und bei 69 % herrschte gewissermassen Übereinstimmung. Die letzte Gruppe macht also den Hauptanteil aus, wobei aber bemerkt werden muss, dass etwa die Hälfte davon überhaupt colifrei war. Somit müssen die Befunde von Membranfilter und Gusskultur zwangsläufig übereinstimmen. Wo die Membranfilter die kleineren Zahlen lieferten, spielen die Flächenverhältnisse und die längere Bebrütungszeit bei der Gusskultur eine Rolle. Das umgekehrte Verhältnis lässt sich vielleicht durch Festigkeitsunterschiede im Nährsubstrat erklären. Zwecks besserer Diffusion enthält der Endoagar beim Membranfilter nur 1 % Agar, bei der Gusskultur jedoch 3 %. Solche Unterschiede können für das Bakterienwachstum entscheidend sein. Ich erinnere dabei an die vergleichenden Untersuchungen<sup>3)</sup> zwischen Nähragar und Nährgelatine, wobei letztere die höheren Keimzahlen liefert.

Wie schon erwähnt, spielt bei Serienuntersuchungen der Zeitaufwand eine wesentliche Rolle. Beim Membranfilterverfahren verhält es sich so, dass von Probe zu Probe der Einfüllaufsatz sowie die Siebplatte stets entkeimt werden müssen, was zweckmässig durch Abflambieren geschieht. Mangelhaftes Manipulieren wirkt sich meines Erachtens gravierender aus als Unsorgfältigkeit beim Titerverfahren. Ohne Zuhilfenahme der Gusskulturen muss die Filtration von mindestens 3 verschiedenen grossen Wassermengen vorausgesetzt werden, um einen einwandfreien Zahlenbefund zu erhalten. Das braucht ordentlich Zeit, wogegen sich das Herstellen zweier Gusskulturen für kleine Quantitäten einfacher und schneller gestaltet.

Abschliessend darf gesagt werden, dass das Membranfilter zweifelsohne seine grossen Vorzüge hat. Es ist ein begrüssenswerter Ersatz für die Anreicherungskulturen wegen des direkten und schnelleren Colibefundes. Von der Praxis aus gesehen, leistet es wertvolle Dienste, wenn Wassermengen von über 5 cm<sup>3</sup> geprüft werden müssen. Für Mengen von 5 cm<sup>3</sup> und weniger eignen sich Gusskulturen entschieden besser. So betrachtet, darf das Membranfilter als eine vorzügliche Ergänzung zum Gusskulturverfahren bewertet werden, wobei die instruktive Wiedergabe des Befundes an Hand der getrockneten Filter ganz besonders ins Gewicht fällt.

### *Literatur*

- <sup>1)</sup> *H. Beger*: Leitfaden der bakt. Trinkwasseruntersuchung. Urban und Schwarzenberg, Berlin-München 1948.
- <sup>2)</sup> La colimétrie de l'eau sur membranes filtrantes. Annales de l'Institut Pasteur 1953, S. 1010.
- <sup>3)</sup> *O. Thomann*: Mitt. **42**, 106 (1951).

### *Diskussion*

*Frage F. Kauffungen*: Eignet sich das Membranfilter auch für Trübwasser (Bachwasser) ?

*Antwort*: Nein, in diesem Fall sind Gusskulturen einfacher und rationeller.

*Bemerkung Burkard*: Das Membranfilter leistet auch sehr gute Dienste bei der chemischen Untersuchung von Wasserproben. Bei Grundwasser-Pumpversuchen ist das Wasser häufig durch lehmige Trübungen verunreinigt, welche eine Bestimmung des gelösten Eisens erschweren. Die Filtration durch Membranfilter erlaubt gelöste und ungelöste Stoffe getrennt zu bestimmen.

Dr. A. Schürch, J. Barboriak und M. Findrik, Zürich:

## Neuere Erfahrungen mit der kolorimetrischen Chromoxydbestimmung

### Verwendung des Chromoxyds als Leitsubstanz bei Verdauungsversuchen an Kaninchen

Die Indikatormethoden, die heute vermehrt zur Verdaulichkeitsbestimmung angewendet werden, ermöglichen die Berechnung der Verdauungskoeffizienten aus der *Veränderung der Konzentration*, die eine unverdauliche Leitsubstanz vom Futter zum Kot erfährt, unter Verwendung folgender Grundformel oder Abwandlungen hiervon:

$$VK = \frac{c_K - c_F}{c_K} \cdot 100$$

VK = Verdauungskoeffizient

$c_F$  bzw.  $c_K$  = Indikatorkonzentration im Futter bzw. Kot

Diese Formel lässt erkennen, dass, im Gegensatz zur konventionellen Methode des Verdauungsversuches, bei den Indikatormethoden die Menge des aufgenommenen Futters und des ausgeschiedenen Kotes nicht bestimmt werden muss, sofern die Konzentration der Leitsubstanz im Futter konstant gehalten wird. Mit solchen Methoden kann u.a. in einem Wachstumsversuch bei *ad libitum* Fütterung gleichzeitig die Verdaulichkeit der Ration bestimmt werden.

An einen Stoff, der als Leitsubstanz Verwendung finden soll, sind folgende Ansprüche zu stellen:

- Unschädlichkeit
- keine Beeinflussung der Verdauungsvorgänge
- Unverdaulichkeit oder vorauszusagende Verdaulichkeit
- leichte Bestimbarkeit in Futter und Kot.

Die Leitsubstanz, die diesen Ansprüchen am besten genügt, ist das *Chromoxyd* ( $Cr_2O_3$ ). Es ist unschädlich, inert und vollkommen unverdaulich. Eine einfache Bestimmungsmethode ist von *Schürch, Lloyd und Crampton* (1950) entwickelt und von *Schürch* (1952) in den «Mitteilungen» beschrieben worden.

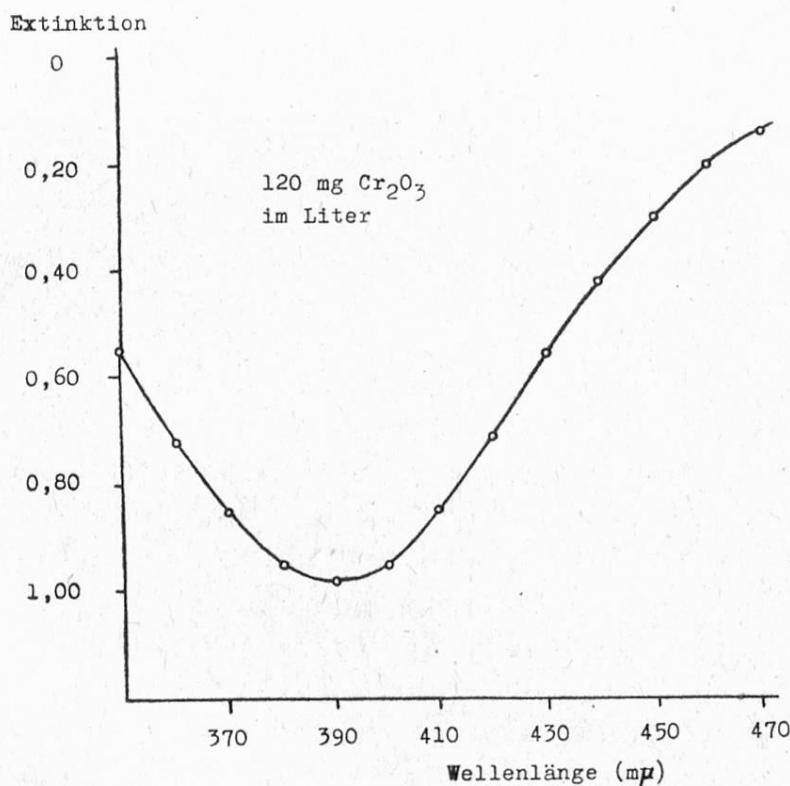
### Neuere Erfahrungen mit der kolorimetrischen Chromoxydbestimmung

Bei der Bestimmung des Chromoxyds nach *Schürch, Lloyd und Crampton* (1950) werden die Futter- und die Kotasche mit Natriumperoxyd geschmolzen, die Schmelze in Wasser gelöst und die Lichttransmission oder die Extinktion bei einer Wellenlänge von 420—440  $\mu$  gemessen. Hierbei zeigte es sich, dass für die entstehenden Chromatlösungen das Beer-Lambert-Gesetz keine Gültigkeit hat, d.h., dass die Extinktionswerte nicht in geradliniger Beziehung zur Konzentration des Chroms stehen.

Die Richtigkeit dieser Beobachtung ist neuerdings von *Dansky* und *Hill* (1952) von der Cornell-Universität bestritten worden. Diese machen geltend, dass unsere Messungen nicht beim Absorptionsmaximum durchgeführt worden seien, was auch zutrifft, da seinerzeit kein Spektrophotometer zur Verfügung stand. Sie behaupten, dass bei dem mit einem Beckmann-Photometer festgestellten Absorptionsmaximum von  $375 \text{ m}\mu$  das Beer-Lambert-Gesetz Gültigkeit habe. Eine Überprüfung dieser Aussagen mit Hilfe eines Coleman-Spektrophotometers hat folgendes ergeben:

### 1. Das Absorptionsmaximum

In einer Reihe von Messungen des Absorptionsspektrums mit wechselnd konzentrierten Chromatlösungen, die durch Schmelzen von Chromoxyd gewonnen wurden, bewegte sich das Absorptionsmaximum zwischen 380 und 400  $\text{m}\mu$ . Das Beispiel einer solchen Kurve, die bei einer 120 mg  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  per Liter äquivalenten Konzentration aufgenommen wurde, ist in Figur 1 dargestellt.

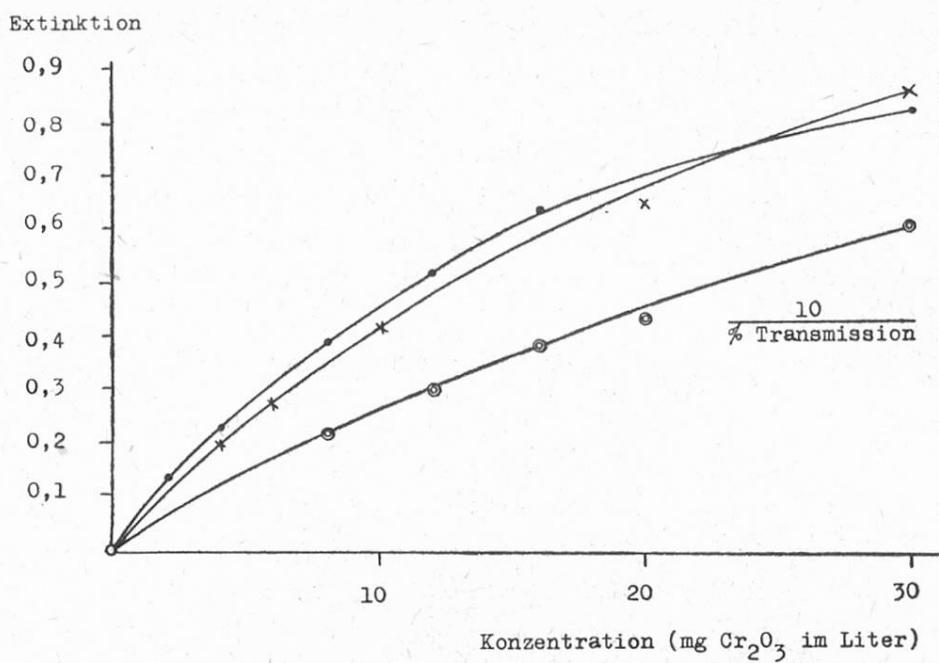


Figur 1

Absorptionsspektrum einer Chromatlösung aus geschmolzenem Chromoxyd  
(Konzentration äquivalent 120 mg  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  per Liter)

### 2. Die Beziehungen zwischen Extinktion und Chromoxydkonzentration

Unsere Untersuchungen, welche über einen weiten Konzentrationsbereich ausgedehnt wurden, ergaben bei  $375 \text{ m}\mu$  und bei  $390 \text{ m}\mu$  die in Figur 2 gezeigten Beziehungen zwischen der Extinktion und den im Ausgangsmaterial vorhandenen Chromoxydmengen.



Figur 2  
Beziehungen zwischen Extinktion bzw. dem reziproken Wert der Lichttransmission und der als Chromoxyd ausgedrückten Chromkonzentration

Aus Figur 2 ersieht man, dass weder bei 375 noch bei 390 mμ eine lineare Beziehung zwischen der Extinktion und der als Chromoxyd ausgedrückten Chromkonzentration besteht. Hingegen zeigen die Kurven im Bereich von 0—14 mg Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> per Liter, in welchem *Dansky* und *Hill* (1952) ihre Messungen durchgeführt haben, eine Annäherung an eine lineare Beziehung, welche die genannten Autoren zum Fehlschluss verleitete, das Beer-Lambert-Gesetz sei in diesem Falle gültig. Die beste Annäherung an eine geradlinige Beziehung zeigen die reziproken Werte der Lichttransmission.

Auf Grund dieser Untersuchungen möchten wir für die kolorimetrische Chromoxydbestimmung empfehlen, die Messungen der Extinktion oder der Lichttransmission bei 390 mμ auszuführen und die Ergebnisse aus einer vorher aufgestellten Eichkurve abzulesen.

#### Die Verwendung des Chromoxyds als Leitsubstanz bei Verdauungsversuchen an Kaninchen

In früheren Untersuchungen ist gezeigt worden, dass sich das Chromoxyd als Leitsubstanz in Verdauungsversuchen am *Menschen* (*Irwin* und *Crampton* (1951)), *Ratten* (*Schürch*, *Crampton*, *Haskell* und *Lloyd* (1952)) und *Geflügel* (*Müller* (1953)) eignet, wobei im Falle des Geflügels darauf zu achten ist, dass sowohl Tages- als auch Nachtkot gesammelt werden, die die Zusammensetzung der Geflügelexkremente je nach der Tageszeit variiert. Beim *Wiederkäuer* hat sich die Chromoxydmethode nur als brauchbar erwiesen, wenn die Leitsubstanz, vermischt

mit einer beträchtlichen Kraftfuttergabe, verabreicht wird; wenn nur Rauhfutter gegeben wird, so sind die mit Hilfe von Chromoxyd ermittelten Verdaulichkeitswerte unbefriedigend, wahrscheinlich, weil eine Trennung des spezifisch schweren Chromoxyds vom Futter erfolgt (Crampton und Lloyd (1951)).

Da *Kaninchen* oft als Versuchstiere für Verdauungsversuche Verwendung finden, sollte geprüft werden, ob sich die Chromoxydmethode auch für diese Tierart eignet. 4 Versuchstiere der Champagne-Silberrasse erhielten ein fertiges Kaninchenmischfutter, welchem ca. 1 % Chromoxyd beigemischt war. Mit jedem der vier Tiere wurden 5 dreitägige Versuchsperioden durchgeführt, in welchen jeweils der Kot getrennt gesammelt wurde. Wahrscheinlich infolge Beunruhigung der Tiere zu Beginn des Versuches fielen die Verdauungskoeffizienten der ersten Dreitagesperiode bei allen Tieren aus dem Rahmen und wurden deshalb von der Auswertung ausgeschlossen. Die folgenden Ergebnisse stellen somit Durchschnittswerte der restlichen 4 Dreitagesperioden dar.

In Tabelle 1 sind die mittlere tägliche Kotausscheidung und der Trockensubstanz-, Rohprotein- und Rohfasergehalt des Kotes unter Angabe der jeweiligen Standardabweichung angeführt.

*Tabelle 1*  
*Menge und Zusammensetzung des ausgeschiedenen Kotes*

Kaninchen Nr.	1	2	3	4
Mittlere tägliche Kotausscheidung in g Trockensubstanz	26,9 ± 3,6	42,3 ± 1,9	41,7 ± 1,5	29,6 ± 4,6
<i>Zusammensetzung des Kotes:</i>				
Trockensubstanz	93,9 ± 0,7	94,3 ± 0,4	95,0 ± 0,4	94,2 ± 0,7
Rohprotein	11,1 ± 0,6	13,3 ± 1,6	12,5 ± 0,03	12,7 ± 0,8
Rohfaser	26,7 ± 1,7	26,3 ± 0,6	27,3 ± 0,8	27,1 ± 0,7

Bei Betrachtung der in Tabelle 1 wiedergegebenen Werte fällt auf, dass die Standardabweichung für die Kotausscheidung durchwegs grösser ist als für die Kotzusammensetzung. Dieses Ergebnis besagt, dass die Bestimmung der gesamten Kotausscheidung, auf welcher der konventionelle Verdauungsversuch basiert, einer grösseren Schwankungsbreite unterworfen ist als die Kotzusammensetzung, welche bei den Indikatorenmethoden allein massgebend ist. Die *Chromoxydmethode* gibt somit unter den gewählten Bedingungen die *zuverlässigeren Werte als die konventionelle Methode* der Verdaulichkeitsbestimmung, welche durch die ungleichmässige Kotausscheidung beeinflusst wird.

Diese Überlegung wird auch durch den in Tabelle 2 dargestellten Vergleich der nach der konventionellen und nach der Chromoxydmethode bestimmten Verdauungskoeffizienten für die Trockensubstanz und für das Rohprotein bestätigt.

*Tabelle 2*  
*Vergleich der konventionellen und der Chromoxydmethode*  
*zur Verdaulichkeitsbestimmung beim Kaninchen*

Kaninchen Nr.	1	2	3	4
<i>Verdaulichkeit der Trockensubstanz</i>				
konventionell $\text{Cr}_2\text{O}_3$	$74,8 \pm 3,8$ $73,8 \pm 2,0$	$70,5 \pm 1,5$ $75,5 \pm 1,2$	$71,2 \pm 0,8$ $68,4 \pm 0,6$	$73,4 \pm 4,7$ $76,0 \pm 1,9$
<i>Protein- verdaulichkeit</i>				
konventionell $\text{Cr}_2\text{O}_3$	$83,7 \pm 3,1$ $83,5 \pm 1,0$	$77,0 \pm 2,9$ $80,0 \pm 0,8$	$79,5 \pm 0,8$ $77,5 \pm 0,4$	$79,9 \pm 2,8$ $80,8 \pm 0,4$

Die nach den beiden Methoden bestimmten mittleren Verdauungskoeffizienten zeigen durchwegs eine gute Übereinstimmung. Dabei fällt auf, dass die Standardabweichung der nach der Chromoxydmethode ermittelten Verdauungskoeffizienten ausnahmslos kleiner ist als bei den nach der konventionellen Methode gefundenen Werten.

Diese Versuche haben somit den Nachweis für die *Ebenbürtigkeit, ja sogar Überlegenheit der Chromoxydmethode über die konventionelle Methode* in kurzfristigen Verdauungsversuchen am Kaninchen erbracht.

### Zusammenfassung

Untersuchungen über die Chromoxydmethode zur Verdaulichkeitsbestimmung haben zu den folgenden Ergebnissen geführt:

1. Entgegen der Auffassung von *Dansky* und *Hill* (1952) gilt das Beer-Lambert-Gesetz für die aus Chromoxydschmelzen entstehenden Chromatlösungen nicht. Das Absorptionsmaximum solcher Lösungen wurde bei etwa  $390 \text{ m}\mu$  gefunden.
2. Die Chromoxydmethode eignet sich für die Durchführung von Verdauungsversuchen an Kaninchen und gibt bei kurzfristigen Versuchen genauere Ergebnisse als die konventionelle Methode.

### Summary

Investigations on the use of the chromic oxide indicator method for the determination of digestibility have shown the following results:

1. Contrary to the statements of *Dansky* and *Hill* (1952) the Beer-Lambert law has no validity for chromate solutions from fused chromic oxide. The absorption maximum for such solutions has been found at about  $390 \text{ m}\mu$ .
2. The chromic oxide method is useful for digestion experiments with rabbits and yields in short time experiments more accurate results than the conventional method.

## Literatur

- E. W. Crampton und L. E. Lloyd:* Studies with sheep on the use of chromic oxide as an index of digestibility of ruminant rations. *J. Nutrition* **45**, 319—327 (1951).
- L. M. Dansky und F. W. Hill:* Application of the chromic oxide indicator method to balance studies with growing chickens. *J. Nutrition* **47**, 449—459 (1952).
- M. Isabel Irwin und E. W. Crampton:* The use of chromic oxide as an index material in digestion trials with human subjects. *J. Nutrition* **43**, 77—85 (1951).
- W. Müller:* Die Brauchbarkeit von Indikatormethoden bei Verdauungsversuchen mit Ge-  
flügel. Diss. ETH, Zürich 1953.
- A. F. Schürch, L. E. Lloyd und E. W. Crampton:* The use of chromic oxide as an index for determining the digestibility of a diet. *J. Nutrition* **41**, 629—636 (1950).
- A. F. Schürch, E. W. Crampton, S. R. Haskell und L. E. Lloyd:* The use of chromic oxide in digestibility studies with pigs fed ad libitum in the barn. *J. Animal Sci.* **11**, 261—265 (1952).
- A. Schürch:* Die Chromoxyd-Indikator-Methode zur Verdaulichkeitsbestimmung. Mitt.  
aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene **43**, 335—342 (1952).

Keine Diskussion.

Dr. H. Hadorn, Basel:

## Neue Methode zur Bestimmung der ätherischen Öle in Gewürzen

Die Bestimmung der ätherischen Öle nach dem neuen Verfahren beruht auf dem Prinzip der Oxydationsmethode und erfolgt in einem speziell konstruierten Apparätschen. Die in einem kleinen Gläschen abgewogene Gewürzprobe (20—100 mg) wird mit 1 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt, das Gläschen in das geschlossene, mit Bichromat-Schwefelsäure beschickte Absorptionsgefäß eingehängt und hierauf die ganze Apparatur in einem Trockenschrank bei 105° erhitzt. Die ätherischen Öle verflüchtigen sich mit dem Wasser und werden von der Absorptionsflüssigkeit oxydiert. Durch einen eingeschmolzenen Tropftrichter gibt man zum angetrockneten Gewürzpulver nochmals 1 cm<sup>3</sup> Wasser zu und erhitzt weiter. Auf diese Weise werden noch die letzten im Untersuchungsmaterial verbliebenen Reste ätherischer Öle ausgetrieben.

Die Bestimmung der für die Oxydation der ätherischen Öle verbrauchten Bichromatmenge erfolgt jodometrisch.

Die ausführliche Arbeitsvorschrift und der Vergleich der Resultate mit anderen Methoden wird in einer etwas erweiterten Form in den «Mitteilungen» erscheinen.

## *Diskussion*

*Bemerkung Sturm:* Ich bin der Auffassung, dass eine Bestimmung der ätherischen Öle auf oxydativem Wege grundsätzlich falsch ist, da nicht nur diese ätherischen Öle, sondern alle übrigen organischen flüchtigen Stoffe, z.B. niedere Fettsäuren, der Oxydation zugeführt werden und damit zu hohe Werte für den Gehalt an ätherischen Ölen vorgetäuscht werden.

Um 11.00 Uhr kann auch der zweite wissenschaftliche Teil abgeschlossen werden.

Nicht weniger als fünf grosse Autocars erwarten die Teilnehmer für eine prachtvolle Fahrt unter kundiger Führung in den Neuenburger Jura. Via Colombier, La Tourne, Le Prévoux, Col-des-Roches, Le Locle, La Chaux-de-Fonds gehts auf die Vue-des-Alpes, wo ein gegen 13.00 Uhr serviertes Mittagessen die vortrefflich abgelaufene Tagung abschliesst.

Im Namen aller Teilnehmer spreche ich Kollege *Achermann* und seiner Frau Gemahlin den herzlichsten Dank aus für die ausgezeichnete Vorbereitung unserer 65. Jahresversammlung.

*E. Jaag*