

Zeitschrift für angewandte Chemie

und

Zentralblatt für technische Chemie.

XXII. Jahrgang.

Heft 3.

15. Januar 1909.

Über Fettspaltung mit Pankreas.

Von EMIL BAUR.

Obwohl seit Claude Bernard bekannt ist, daß in der Bauchspeicheldrüse ein bei der Fettdauung tätiges Ferment vorkommt; war man doch lange Zeit im Ungewissen darüber, ob die Pankreaslipase nur einen gewissen kleinen Teil der Fette des Speisebreies spaltet, soviel eben nötig ist, um eine feine Emulsion hervorzubringen, oder ob alles Fett gespalten wird. Dies lag daran, daß die Wirkung des Pankreassafes *in vitro*, wobei man diesen gewöhnlich in Gemeinschaft mit Soda auf die Fette wirken ließ, immer nur geringfügig ausfiel¹⁾. Erst neuere Untersuchungen haben die Überzeugung gekräftigt, daß im Zwölffingerdarm eine völlig durchgreifende Verseifung vor sich geht²⁾.

Nun kam 1902 die Mitteilung von Connstein, Hoyer, Warthenberg³⁾, wonach pflanzliche Lipasen, wie sie bequem zugänglich in den Ricinussamen vorkommen, unter gewissen Bedingungen, unter denen die Einhaltung einer bestimmten Acidität die wichtigste ist, eine sehr geschwinde und sogar technisch verwertbare Verseifung hervorbringen⁴⁾. Diese Entdeckung gab einen Anstoß, um auch der tierischen Lipase ein hohes Verseifungsvermögen zu entlocken. Versuche nach dieser Richtung stellte z. B. Lewkowitsch⁵⁾ mit Lipase aus Schweinsleber an, doch ist er nach seinen Angaben nicht über 3% Fettspaltung hinausgekommen, was er der Unvollständigkeit der Emulsionierung zuschreibt. Etwa gleichzeitig hat Fokin⁶⁾ mit Pankreasaff Fette zu verseifen gesucht und erreichte in der Tat mit Mandelöl in 7 Tagen 82% Spaltung, indem er nach Maßgabe des Umsatzes in kleinen Portionen verdünnte Sodalösung der Reaktionsmasse hinzufügte.

Angeregt durch das Interesse, welches die Umkehrung der lipolytischen Wirkung bietet⁷⁾, habe ich mich vor einiger Zeit auch mit diesem Gegenstande beschäftigt. In Unkenntnis des Fokinschen Versuches knüpfte ich an die Bemerkung Lewkowitschs an und probierte es mit einem

¹⁾ Vgl. z. B. Neumeister, Lehrb. d. physiol. Chem., 2. Aufl., 1897, S. 292.

²⁾ Vgl. Green-Windisch, Die Enzyme. Berlin, Parey, 1901, S. 225.

³⁾ Berl. Berichte 35, 3988 (1902).

⁴⁾ M. Nicloux, Contribution à l'étude de la saponification des corps gras. Paris, Hermann, 1906: D. R. P. 145 413 — 147 757 — 188 429. (Ver. chem. Werke, A.-G., Charlottenburg). D. R. P. 188 511 — 191 113 (Nicoloux).

⁵⁾ J. Soc. chem. Ind. 22, 67 (1903).

⁶⁾ Revue der Fette u. Harze 1904, S. 244—247.

⁷⁾ Pottevin, Compt. r. d. Acad. d. sciences 136, 1152 (1903); 137, 378 (1904) u. ff. — Bodeinstein, Z. f. Elektrochem. 12, 605 (1906); Dietz, Dissertation, Leipzig 1907.

Zusatz von Türkischrotöl zu dem Gemisch von Fett, Wasser und Pankreas. Türkischrotöl ist ein ausgezeichnetes emulsifizierendes Mittel. Indessen zeigen die Versuche alsbald, daß man einen dergleichen Zusatz entbehren kann, wenn eine andere für die Pankreaswirkung wesentliche Bedingung in zweckmäßiger Weise erfüllt wird. Das ist eine bestimmte, aber sehr geringe Alkalität. Die früheren Versuche der Physiologen, welche mehr bloß der Demonstration der lipolytischen Wirkung galten, hatten deswegen nur mäßige Verseifung erkennen lassen, weil die Alkalität entweder größer oder kleiner war, als der optimalen Wirkungszone der Pankreaslipase entspricht. Fokin scheint dies erkannt zu haben, soweit seine wenigen darauf bezüglichen Versuche hinreichend sein konnten zu einer allgemeinen Auffassung des Sachverhalts. Jedenfalls hat das Kaiserliche Patentamt Fokins Mitteilung als patenthindernid angesehen für das Verfahren der pankreatischen Fettspaltung, das ich im folgenden in Kürze beschreiben möchte.

Wenn ein solches Verfahren auf Verwendbarkeit im Großen abzielt, so kann man naturgemäß nicht mit Pankreasaff arbeiten, sondern muß die ganze Drüse der Schlachttiere verwenden. Und da es lästig und auch oft untnlich ist, immer wieder mit frischem Drüsennmaterial zu arbeiten, so mußte aus diesem ein Dauerpräparat hergestellt werden. Dieses gewann ich in Anlehnung an Dietz⁸⁾ und Pottelin⁹⁾ in folgender Weise. Frisch vom Schlachthaus bezogene Bauchspeicheldrüsen vom Schwein werden aus ihrer Fett- und Bindegewebshülle sauber herauspräpariert, wobei man etwa die Hälfte des Rohgewichts an reinem Drüsengewebe erhält (aus 7 Pfund angeliefertem Material etwa 3,5 Pfund Drüse). Das Drüsengewebe wird durch die Fleischhackmaschine getrieben. Darauf wird der Brei mit etwa der doppelten Menge Alkohol übergossen, durchgerührt und stehen gelassen. Nach einem oder mehreren Tagen wird die Masse kolliert und stark gepreßt. Dabei geht eine trübe Brühe durch die Koliertücher, welche den Inhalt der Drüsenzellen in feiner Verteilung enthält. Der Rückstand auf dem Koliertuch wird zweckmäßig nochmals durch die Fleischhackmaschine getrieben, nochmals mit Alkohol angemacht und wie vorher behandelt. Dabei wird eine zweite Portion des im Alkohol aufgeschlämmten Inhalts der Drüsenzellen gewonnen. Beide Kolierungen werden vereinigt und mit so viel Äther versetzt, als nötig ist, um den Drüsenschlamm zum Absetzen zu bringen. Hierauf wird er abgenutscht und mit Äther mehrmals gewaschen. Es hinterbleibt eine dicke Masse, die ähnlich aussieht wie Preßhefe. Man breitet sie in dünner Schicht auf Filterpapier aus, damit sie rasch trocknet, was man durch Zerkrümeln zw.

⁸⁾ Dissertation I. c.

⁹⁾ Bll. Soc. chim. (3) 35, 693 (1906).

schen den Fingern beschleunigen kann. So erhält man ein feines, helles, lufttrockenes, geruch- und geschmackloses, leichtes Pulver, das viele Monate lang seine lipolytische Kraft unverändert beibehält.

Die Rückstände auf den Koliertüchern bestehen aus den Bindegewebshüllen der Drüsenfollikel, sie enthalten aber noch viel Material der Drüsenzellen und sind dementsprechend auch lipolytisch wirksam. Wenn man die Rückstände zur Verdrängung des Alkohols mit Äther behandelt, kann man sie auch auf der Nutsche absaugen und an der Luft trocknen und erhält dann ein Präparat zweiter Qualität, das sich vom ersten dadurch unterscheidet, daß es faserig ist. In seiner fettspaltenden Wirkung ist es, gleiche Gewichtsmengen verglichen, träger als das Reinpräparat, weil es eben weniger Drüsenmaterial enthält.

In derselben Weise kann man auch Rinderpankreas in die Form eines Dauerpräparates bringen. Auch sei gleich bemerkt, daß der Pankreas vom Schwein und Rind in der fettspaltenden Wirkung einander gleich sind. Rindspankreas hat einen gewissen Nachteil insofern, als die Bindegewebfasern größer sind.

Die Präparate werden zu ihrer Verwendung im Fettspaltungsversuch mit Wasser in der Reibschale unter dem Pistill zu einem gleichmäßigen feinen Brei verrieben. Hierbei ist zur Vermeidung von Klumpenbildung, wie bei der Herstellung aller Breie, zu beachten, daß das Wasser in kleinen Portionen zugegeben und allmählich in das Feste geknetet wird. Ganz ebenso kann auch frischer Drüsenbrei mit Wasser zu einer dünnen Suspension angemacht werden.

Ich habe gefunden, daß zu energetischer Verseifung 5% des frischen Organbreies, bezogen auf das Gewicht des zu verseifenden Fettes, genügen. Ebensoviel ist auch von dem faserigen Trockenpräparat hinreichend und natürlich erst recht von dem faserfreien Reinpräparat.

Der springende Punkt bei der Pankreasverseifung ist nun der, daß man während derselben durch passend zu regulierenden tropfenweisen Zusatz von Sodalösung die Wasserstoffionenkonzentration in der Reaktionsmasse etwa zwischen den Grenzen 10^{-6} und 10^{-8} Mole pro Liter hält, also so, daß z. B. Paranitrophenol noch nicht entfärbt und Phenolphthalein noch nicht gerötet wird. In diesem Gebiet geht die Verseifung durch Pankreaslipase vollständig und mit maximaler Geschwindigkeit vor sich. Demnächst ist dafür zu sorgen, daß sich eine beständige Emulsion zwischen dem Fett und dem wässrigen Organbrei ausbildet. Dazu läßt man die Verseifung nach Einröhren des Fermentes in das Fett erst ohne Soda angehen und beginnt mit dem Sodazusatz erst nach etwa einer halben oder ganzen Stunde. Offenbar muß schon etwas Fettsäure da sein, bevor man mit der Soda hineingeht, sonst schädigt man das Ferment. Hat man wenig oder wenig wirksames Ferment, so muß man anfangs die Soda recht langsam und in Pausen zusetzen, bis die Masse anfängt, durch ausgeschiedene Fettsäuren sahnig und dicklich zu werden. Von da an darf man den Sodazusatz beschleunigen. Durch fortgesetzte Prüfung der Reaktion der Masse hat man sich dem Einzelfalle anzupassen.

Danach gestaltet sich der allgemeine Hergang

der Verseifung so, daß das allenfalls zuvor flüssig gemachte Fett oder Öl in ein Gefäß mit Rührwerk gegeben und der mit Wasser angemachte Organbrei der Bauchspeicheldrüse dazugegossen wird. Nach Ingangsetzung der Rührung vollzieht sich alsbald eine Emulsionierung von Fett und Ferment. Zweckmäßig nach einer halben oder ganzen Stunde beginnt man mit dem allmählichen Zulauf einer Sodalösung, wobei man die Geschwindigkeit so regelt, daß die Reaktion der Emulsion, geprüft durch Tüpfeln auf rotem und blauem Lackmuspapier, stets auf beide Papiere durch Bildung eines violetten Fleckes wirkt.

Nach einer bis zwei Stunden ist im allgemeinen die erforderliche Menge Sodalösung zugeflossen. Es hat sich meist als zweckmäßig herausgestellt, 5%ige Sodalösung (53 g Na_2CO_3 im Liter Normallösung) zu nehmen, und davon rund 25% der den Fettsäuren äquivalenten Menge der Reaktionsmasse einzuhüften. Die Rührung muß man danach meist abstellen, weil die Masse von ausgeschiedenen Fettsäuren steif geworden ist. Man überläßt dann die Masse sich selbst.

Nach 5 Stunden pflegen je nach der Natur des Fettes 60—80% gespalten zu sein. Einen gewissen Einfluß haben darauf auch die Temperatur, die angewandte Menge Ferment und die Stärke der Sodalösung. Nach 1 bis 4 Tagen ist die Spaltung quantitativ. Ist dies erreicht, so können in bekannter Weise entweder die Fettsäuren zur Abscheidung gebracht oder die entsprechenden Seifen hergestellt, das Glycerin gewonnen werden u. s. f.

Das Gesagte mögen die folgenden Beispiele erläutern:

a) 100 g Cocosöl werden mit 4 g Pankreaspulver, aufgeschwemmt in 60 g Wasser, verrührt und im Verlauf von einer Stunde unter Röhren 100 ccm zweifach normaler Sodalösung zugetropft.

b) 100 g Baumwollsamenöl werden mit 6 g Pankreaspulver, aufgeschwemmt in 60 g Wasser, verrührt und im Verlauf von einer Stunde unter Röhren 100 ccm normaler Sodalösung zugetropft.

c) 100 g Maisöl werden mit 4 g Pankreaspulver, aufgeschwemmt in 60 g Wasser, verrührt und unter Röhren im Verlauf von zwei Stunden 100 ccm normaler Sodalösung zugetropft.

d) 100 g Palmöl werden mit 5 g Pankreaspulver, aufgeschwemmt in 60 g Wasser, verrührt und bei 35° im Verlauf von einer Stunde unter Röhren 100 ccm normaler Sodalösung zugetropft.

e) 100 g Rindstalg werden geschmolzen und bei 40° mit 6 g Pankreaspulver, aufgeschwemmt in 60 g Wasser, verrührt. Darauf werden im Verlauf von einer Stunde bei etwa 35° unter Röhren 80 ccm normaler Sodalösung zugetropft.

In allen Fällen wird die Masse nach den angegebenen Zeiten steif und bei c, d, e unruhrbar. a, b, c werden bei gewöhnlicher Temperatur verseift. Nach fünf Stunden sind von a 86%, von b, c, d 75—80%, von e 66% gespalten. Quantitative Spaltung ist in a nach einem, in b, c, d nach drei Tagen, in e nach dem vierten Tage eingetreten.

Statt der rund 5% des in vorstehenden Beispielen aufgeführt faserfreien Pankreas-Dauerpräparates kann man mit wesentlich demselben Erfolge auch eine gleiche Gewichtsmenge schlachfrisches Drüsengewebe nehmen, das in der Hack-

maschine gut zerkleinert und unter dem Pistill in der Reibschale mit der angegebenen Menge Wasser möglichst gleichmäßig verrieben ist. Wenn die Verreibung nicht genügend fein ausfällt, so stößt man hier auf die Schwierigkeit, daß die Bindegewebsfasern beim Rühren sich verfilzen und am Rührer zu einem Knäuel aufwickeln. Dasselbe kann natürlich auch vorkommen, wenn man ein von Bindegewebe nicht befreites Dauerpräparat verwendet. Namentlich Rinderpankreas hat diese unangenehmen Eigenschaften. Es wäre ihr durch Zerreissen des Organbreies in einem Holländer zu begegnen.

Um die Vollständigkeit der Fettspaltung in der Reaktionsmasse zu untersuchen, entnimmt man eine kleine Probe und löst sie auf dem Wasserbad in halbnormalem, alkoholischem Kali. Ungespaltenes Fett verbleibt in kleinen Tröpfchen am Boden der in der Hitze klaren Lösung der Seifen.

Zum quantitativen Verfolgen der Spaltung nimmt man eine gewogene Probe (etwa 2 oder 3 g), deren Fettgehalt durch die Gewichte der im Versuch genommenen Mengen Öl, Ferment, Wasser und Sodalösung gegeben ist, erhitzt sie mit etwas Wasser in einem kleinen Becherglase, versetzt mit einigen Tropfen Kongorot und läßt aus einer Bürette Salzsäure zulaufen bis zum Farbenumschlag nach Violett. Man kocht nochmals auf zur Vertreibung der Kohlensäure und gibt wieder Salzsäure zu, bis die violette Farbe bestehen bleibt. Dann sind Soda und Seifen gerade zersetzt. Nun fügt man etwa gleiche Volumina Alkohol und Äther hinzu, um Fett und Fettsäuren zu lösen, und versetzt mit etwa 20 Tropfen 1%igem, alkoholischem Phenolphthalein. Die in diesem Zustand vom Kongofarbstoff hellfleischrote Lösung wird jetzt mit zehntelnormalen Natron titriert, bis die dunkle Purpurfarbe des Phenolphthaleinions auftritt, was genügend scharf zu erkennen ist. Die verbrauchte Menge Alkali gibt die Menge der entstandenen Fettsäuren an. Sie ist in Beziehung zu setzen mit der Verseifungszahl des genommenen Fettes.

Die Geschwindigkeit der Fettspaltung, wie sie in obigen Beispielen erscheint, ihre Vollständigkeit, die niedrige Arbeitstemperatur, die Einfachheit der Ausführung lassen vermuten, daß die Verseifung mit Pankreas in der Seifen- und besonders der Stearinfabrikation mit Vorteil wird angewendet werden können. Dabei hätte der Pankreas die Konkurrenz zu bestehen mit dem bereits eingeführten Ricinusverfahren der Vereinigten chemischen Werke zu Charlottenburg.

Es scheint, daß der Pankreas dem Ricinusamen insofern überlegen ist, als die Verseifung mit jenem wirklich zu Ende gebracht wird, während sie mit Ricinusamen, soviel man weiß, bei 90% und darunter bleibt¹⁰⁾. Jedoch muß man fragen, ob die verfügbaren Pankreasmengen hinreichen, ob das Material billig genug angeliefert werden kann, und ob die Herstellung des Organbreies leicht geht.

In erster Linie haben wir die Erzeugung von Pankreas zu schätzen.

¹⁰⁾ Bela-Lach, Gewinnung und Verarbeitung des Glycerins. Monograph. über chem.-techn. Fabrikationsmethoden. Bd. VII. Halle, Knapp, 1907.

In Deutschland werden gegenwärtig nach den Zählungen der Fleischbeschau jährlich geschlachtet: rund 15 Mill. Schweine und 7 Mill. Rinder, darunter 3,5 Mill. Kälber. Dies ist der Verbrauch ausschließlich der Hausschlachtungen, also die Schlachtungen, die in Schlachthäusern zentralisiert sind. Der hier fallende Pankreas wird ohne Schwierigkeit gesammelt werden können. Nun gewinnt man vom Schwein durchschnittlich 0,1 kg Bauchspeicheldrüse. Dies macht jährlich 1500 t.

Das Gewicht der Pankreasdrüse von Jungrindern fand ich zu rund 250 g. Rechnet man, was mit dem durchschnittlichen Schlachtgewicht stimmt, für alle Rinder einschließlich der Kälber das durchschnittliche Pankreasgewicht zu 0,2 kg auf das Stück, so ergibt sich, daß man in Deutschland jährlich 1400 t Pankreas vom Rind gewinnen kann. Im ganzen also 2900 t.

Nun wurden 1891 in Deutschland 5000 t Glycerin erzeugt, darunter 2000 t Seifenglycerin. Wir können annehmen, daß das gewonnene Glycerin 10% vom Fettsäurengewicht ausmacht. Also wurden 1891 30 000 t Fettsäuren in Deutschland erzeugt. Rechnet man den Verbrauch an frischem Drüsengewebe zu 5% vom Gewichte der zu spaltenden Fette, so findet man, daß die in den Schlachthäusern fallenden Mengen Pankreas weitaus reichen würden, um den ganzen Bedarf der inländischen Stearinindustrie zu decken.

In anderen Kulturländern läßt sich der Fleischverbrauch schwieriger übersehen. In den packing houses von Chicago wurden 1895 rund 2 Mill. Rinder und 6 Mill. Schweine geschlachtet; dies macht 1000 t Pankreas. Im übrigen kann man den Fleischkonsum pro Kopf der Bevölkerung zur Grundlage nehmen. Gehe ich von den vom englischen statistischen Amt 1890 berechneten und publizierten Daten aus, und nehme ich auf 100 kg Schlachtgewicht 0,1 kg Pankreas an, so komme ich zu folgenden Zahlen:

Pankreas in	t
Vereinigte Staaten von Nordamerika	3800
England	1904
Frankreich	1277
Belgien und Niederlande	322
Österreich-Ungarn	1100
	rund 8400

Nun wird die Weltproduktion an Glycerin 1891 zu 40 000 t angegeben, darunter 14 000 t Seifenglycerin. Abzüglich der deutschen Erzeugung finden wir danach 23 000 t Glycerin aus der Fettsäureindustrie, entsprechend 230 000 t Fett. Es tritt also, bei einem Bedarf von 5% Pankreas, eine Nachfrage von rund 12 000 t daran hervor. Die obige Schätzung der vorhandenen Menge liefert dagegen ein gewisses Manko, doch kann die, absolut genommen, recht bedeutende Menge in Wirklichkeit leicht doppelt so groß ausfallen.

Was den Preis anlangt, so hat man zu bedenken, daß der Rindspankreas mit dem Gekröse meistens beim Talgausschmelzen zugrunde geht. Mit dem Schweinspankreas geschieht wohl zum Teil dasselbe, im übrigen wird die Drüse zur Wurstfabrikation mitverwendet. Mir wurde bei hiesigen Wurstfabrikanten 1 M für das Kilo Schweinspankreas verlangt, doch wird man es bei dauernder Abnahme auch

billiger bekommen. Immer aber wird es teurer bleiben als Ricinussamen, von dem 100 kg in Amsterdam und Hamburg 20 M kosten. Die benötigten Mengen beider Fermentmaterien werden ziemlich die gleichen sein. Es wird also wahrscheinlich das Arbeiten mit Pankreas sich etwas teurer gestalten als mit Ricinussamen. Doch wird das sehr von lokalen Umständen abhängen.

In dritter Linie ist nicht zu erkennen, daß der Ricinussamen wegen seiner Dauerhaftigkeit wohl ein bequemeres Material ist, als eine Drüse, die zur Frischhaltung eines Kühlraumes wie für Fleischwaren bedarf. Auch mag sich vielleicht das Mahlen der Samen einfacher gestalten als die Herstellung eines Organbreies von genügender Feinheit.

Immerhin ist es sehr möglich, daß diese ungünstigen Umstände überkompensiert werden durch andere günstigere, die in der Fabrikation oder in der Qualität des Erzeugnisses hervortreten mögen und sich nicht von vornherein übersehen und in Rechnung setzen lassen.

B r a u n s c h w e i g , Januar 1909.

Technische Hochschule.

Chemische Probleme aus dem Gebiete der Bakterienforschung.

Vortrag, gehalten im Württembergischen Bezirksverein des Vereins deutscher Chemiker.

Von Dipl.-Ing., Dr. ADOLF REITZ (Stuttgart).

(Eingeg. d. 24./11. 1908.)

M. H.! Der durch seine Forschungen auf dem Gebiete der Immunitätserscheinungen bekannte Frankfurter Gelehrte Paul Ehrlich hat vor kurzem in der Deutschen Chemischen Gesellschaft zu Berlin einen Vortrag über Chemotherapie gehalten. Diese Tatsache ist nicht uninteressant. Ein medizinisches Problem vor Chemikern erörtert. Man wird seine Freude über diese Tatsache nicht unterdrücken können. Wurde doch lange Jahre hindurch die Chemie nicht nur in der Medizin, sondern in den biologischen Wissenschaften überhaupt als Stiefkind behandelt. Diese Zeiten sind vorüber. Die Wichtigkeit chemischen Denkens, die Wichtigkeit der chemischen Forschung bei dem Ausbau der biologischen Wissenschaft ist anerkannt.

Einen Einblick in ein Gebiet von Organismen möchte ich Ihnen zu geben versuchen, um Standpunkte des Chemikers einen Einblick in die Welt der Bakterien, derjenigen Lebewesen, die in verschiedener Beziehung von höchstem Interesse für den Menschen sind, als Krankheitserreger sowohl wie als gesuchte Arbeiter bei der Herstellung einer Reihe von Produkten.

Die erste Frage, die der Chemiker bei der Behandlung bakteriologischen Materials aufwerfen wird, ist wohl die nach der chemischen Zusammensetzung des Bakterienleibes. Wollen wir diese feststellen, so muß es uns in erster Linie darum zu tun sein, die Bakterien von ihrem Nährsubstrat zu trennen, damit unser Bakterienmaterial nicht durch die Bestandteile des Nährbodens verunreinigt ist. Die einwandfreie Trennung der Bakterienkörper

ist keineswegs eine einfache. Wir werden je nach den Wachstumseigentümlichkeiten der Bakterienarten verschiedene Methoden zur Anwendung bringen müssen. Hierbei können wir im allgemeinen vier Methoden unterscheiden:

1. Wächst die zu untersuchende Art in verhältnismäßig dicker Schicht auf Nähragar, Kartoffeln oder anderen Nährmedien, so wird es leicht gelingen, mittels Platinspatels oder Skalpells eine Bakterien-schicht abzustreifen, ohne Nährmaterial mitzutreiben.

2. Bildet die betreffende Art ein Häutchen auf Nährbouillon, so hebt man das Bakterienhäutchen ab. Schwierig ist bei dieser Methode die Entfernung der anhaftenden Bouillonreste, die man in der Regel mit Fließpapier abzusaugen sucht.

3. Durch Zentrifugieren der Kulturen und nachheriges Auswaschen des Sediments erhält man einwandfreies Material.

4. Die am häufigsten verwendete Methode kann man als Eiweißfällungsmethode bezeichnen. Die Bakterien sind ziemlich eiweißreich, weshalb sie durch eine Reihe von Reagenzien aus ihren Nährösungen niedergeschlagen werden. R u b n e r schlägt hierzu essigsäures Eisen vor, N e n c k i verwendet Salzsäure, C r a m e r verfuhr bei seinen Cholera-vibrionenuntersuchungen so, daß er die Bouillonkulturen im strömenden Wasserdampf erhitzte, mit verdünnter Salzsäure ansäuerte und sodann auf freier Flamme nochmals erhitzte bis zum Aufwallen der Flüssigkeit.

Bei dieser Methode muß selbstverständlich für die Bakterienzucht ein eiweißfreier Nährboden genommen werden. Ein solcher von U s c h i n s k y vorgeschlagen, von C r a m e r modifiziert, hat folgende Zusammensetzung:

Wasser	1000,0
Milchsäures Ammonium . . .	10,0
Asparagin	3,4
Glycerin	40,0
Kochsalz	5,0
Magnesiumsulfat	0,2
Chlorcalcium	0,1
Kaliumbiphosphat	1,0

Diese Nährlösung wird mit Kalilauge neutralisiert. Ihre Trockensubstanz beträgt rund 5,5%, der Aschengehalt in der Trockensubstanz 11%.

Das nach irgendeiner Methode erhaltenen Material wird im Vakuum bei 20—25° getrocknet.

Der Wassergehalt des Bakterienkörpers wurde verschieden hoch gefunden. Das Bedürfnis der Bakterienarten nach Wasser variiert in beträchtlichen Grenzen. Bei fäulnisregenden Bakterien fand S c h a f f e r als Durchschnitt aus verschiedenen alten Kulturen 84,16%, H a m m e r s c h l a g fand bei Tuberkelbacillen 88,82%, K a p p e s bei Bac. prodigiosus 85,45%, Bac. xerosis 84,93%, B r i e g e r für Bac. pneumoniae 84,2%, K r e s l i n g bei Bac. mallei 75—78%.

Fragen wir uns weiter, aus welchen Elementen, abgesehen von deren prozentualen Verhältnis, der Bakterienleib aufgebaut ist, so geben uns hierüber die Aschenanalysen Aufschluß. Außerordentlich interessante Verhältnisse ergaben die Aschengehaltsbestimmungen, wie sie von C r a m e r, S c h a f f e r, H a m m e r s c h l a g u. a. aus-