

Über diejenigen Prozesse, welche sich bei der üblichen Salzkonservierung des Herings vom Fange oder Ausnehmen des Fisches ab bis zum Verkauf der fertigen Handelsware abspielen, ist im einzelnen bislang wenig bekannt. Der Fisch erfährt notorisch eine Änderung seiner Beschaffenheit, er wird „reif“, und das besteht nach Angabe der Praktiker in einer teilweisen Auflösung der Fleischfasern, wodurch ein saftiges, wohlschmeckendes Produkt erzielt wird.\*). Auf diesen Reifungsprozess haben mancherlei Umstände — zumal auch Temperatur und Salzmenge — einen bestimmenden Einfluss; er erfolgt in Berührung mit der sich alsbald bildenden Lake und tritt somit auch mit dieser in Beziehung. Bei einem näheren Verfolg dieser Vorgänge hält man zunächst wohl zweckmäßig Fisch und Lake auseinander, so unzertrennbar dieselben im übrigen auch sind, da nur durch die frühzeitige Bedeckung mit letzterer ein „Verderben“ des Fisches verhindert wird. Ob aber das Reifen thatsächlich unter Ausschluss jedweder Mikroorganismen-Thätigkeit sich vollzieht, lässt sich erst beurteilen, wenn wir insbesondere auch die Eigenschaften der Lake in dieser Hinsicht näher kennen. Es stände wohl der Annahme, dass wir es da mit einer sehr stark eingeschränkten bakteriellen Wirkung (Zersetzung) zu thun haben, eigentlich nichts entgegen, sobald überhaupt die Möglichkeit für das Abspielen derartiger Prozesse unter solchen Umständen wirklich gezeigt ist.

Die im folgenden niedergelegten Studien, welche übrigens weit davon entfernt sind, das angeregte Thema zu erschöpfen, beschäftigen sich also zunächst mit der Lake, wobei insbesondere auch die Leistung des Kochsalzes — als dem in erster Linie in Betracht kommenden Momenten — genauer berücksichtigt ist. Naturgemäß muss man in solchem Falle von einer ganz bestimmten Lake ausgehen; es haben aber verschiedene Laken ebenso wenig die gleiche Zusammensetzung wie etwa verschiedene Moste, Würzen und dergleichen. Wenngleich das für Einzelheiten in den Resultaten zu berücksichtigen ist, so dürfte dadurch an dem Wesentlichen der Feststellungen doch wenig geändert werden, denn im allgemeinen haben wir auch in der Heringslake eine durch ganz besondere Merkmale scharf charakterisierte Flüssigkeit vor uns (hoher Salzgehalt, Geruch, Gehalt an Fett, Eiweiss und Zersetzungprodukten). Es kann von diesem oder dem ein Mehr oder Weniger vorhanden sein, die eigenartigen Bedingungen, welche ein derartiges Substrat aber speziell auch den Mikroorganismen bietet, schliessen von vornherein prinzipielle Unterschiede im Verhalten gegenüber diesen aus, und ich glaube nicht einmal, dass u. a. auch die Flora anderer Laken wesentlich neues

\*). Malm, Über das Heringssalzen, Vortrag (Mitteil. d. Deutsch. Seefischereivereins 1896, Bd. XII, No. 10 u. 11 S. 276—282), dem auch andere auf die Praxis bezügliche Daten entnommen sind.

bringt. Der Boden bestimmt ja auch sonst die Flora, und auffällige Besonderheiten in seiner Zusammensetzung zeitigen im allgemeinen eine ganz bestimmte Vegetation, deren besonderes Merkmal eben in einer gewissen Beziehung zu jenen steht (Vorliebe, Unempfindlichkeit usw. in Bezug auf Salzkonzentration und andere Momente); die Zahl der Beispiele dafür ist nicht klein.

Nichtsdestoweniger bedarf die in einem konkreten Falle — und so auch hier — vorgelegene Lake einer schärferen Charakterisierung hinsichtlich ihrer allgemeineren Eigenschaften, die hier nebst einigen auf das Methodische bezüglichen Angaben vorausgeschickt sein mag.

### Lakenbeschaffenheit.

Trübgraue wässrige Flüssigkeit von bekanntem Geruche (Heringsgeruch), reich an Fetttröpfchen, suspendierten Fragmenten des Fischkörpers (Epidermisteilen, Schüppchen, Gewebsstückchen unbestimmbarer Art), vereinzelten Krystallnadeln, Eiern usw. Sie wurde in dieser Form direkt dem geöffneten Fass des Verkäufers (zu drei um etwa vier Wochen auseinanderliegenden Zeiten — März bis Mai) entnommen und im Laboratorium in gut verkorkten Flaschen aufbewahrt. Zu den Untersuchungen fand in der Regel die etwas geklärte über dem Satz stehende Flüssigkeit Verwendung.

Beim Durchgang durch ein einfaches Filter bleibt der Hauptanteil der festen Stoffe zurück, man erhält eine schwach trübe Flüssigkeit,\* für die folgendes festgestellt wurde.

100 cc wogen rund 118 g und hinterliessen beim Einengen auf dem Wasserbade einen grau-weissen Rückstand von 35,4 g (lufttrocken), vorwiegend aus Kochsalz bestehend. Die Abscheidung beginnt schon kurz nach dem Erwärmen, sodass also eine hochgesättigte Lösung vorliegt. Die dabei zunächst erscheinende Trübe besteht nach dem Verhalten aus Eiweiss (amorphe zersetzbare Masse), schon nach kurzem wird sie durch reichliche Salzabscheidungen verdeckt, die durch Wiederlösen in Wasser von ihr trennbar sind. Über den genauen Gehalt des Rückstandes an Kochsalz (richtiger Chloriden) gibt Titrieren mit  $\frac{1}{10}$  Silberlösung (chromsaures Kali als Indikator) Aufschluss. Hiernach war der Gehalt nach verschiedenen Bestimmungen 23,4—24,5, also im Mittel 24 pCt. Kochsalz, d. h. in 100 cc = 24 g, während nach obigem an festen Stoffen überhaupt 35 pCt. vorhanden sind, wohl in der Hauptsache anderweitige Salze (Sulfate, Phosphate, Ammoniakverbindungen), etwas Eiweiss u. dergl. Da 100 cc Lake 118 g wogen, enthalten also 100 g Lake ungefähr 20,5 g Salz. Bei der Löslichkeit des Kochsalzes in Wasser (in 100 Teilen 36 Teile) würden 100 g der Lösung davon im Maximum 26,47 g enthalten können. Die Lake ist also annähernd zu  $\frac{4}{5}$  gesättigt.

Ihre Reaktion auf Lakmus war sehr schwach rötend, aber immerhin merklich genug, um deutlich konstatierbar zu sein. Es spielen dabei voraussichtlich sauer reagierende Salze eine Rolle, vielleicht Phosphate oder Sulfate.

\* Wasserklar erhält man sie leicht bei Benutzung doppelter Filter.

Bezüglich des Salzgehaltes werden nun zwischen verschiedenen Laken merkliche Schwankungen stattfinden; man bemisst ihn in der Praxis wohl so ziemlich nach Gutdünken, wenngleich man darüber einig zu sein scheint, dass ein Zuviel ebenso zu vermeiden ist, wie ein Zuwenig. Im ersten Falle soll die Reife des Fisches verzögert oder geradezu verhindert werden, der Fisch also hart und weniger schmackhaft sein.\*). Man wird aber auch wohl aus anderen Gründen eine Salzersparnis vorziehen und gern mit dem notwendigen Minimum zufrieden sein. Bestimmte Zahlen über das benutzte Quantum und die resultierende Konzentration der Flüssigkeit liegen aber auch in dem einzigen hierher gehörigen Falle, wo man bislang wissenschaftlich diesen Umsetzungen etwas näher getreten ist — der Gärströmling-Bereitung in Norwegen\*\*) —, nicht vor.

Das in der Praxis verwendete Salz ist bekanntlich aber keineswegs reines Chlornatrium, sondern enthält ausserdem Chlormagnesium, Magnesium- und Calciumsulfat in wechselnden Mengen, ist also ein verhältnismässig rohes Produkt. Es liegt das nach Angabe im Interesse einer leichteren Schmelzbarkeit, sodass bekanntlich ganz bestimmte zum Teil für diesen Zweck eigens präparierte Sorten (St. Ybes-, Trapani-, Lissabon-, Liverpool-Salz) geschätzt und verlangt werden. Die Frage, in welcher Weise gerade durch die Beimengungen die besondere Beschaffenheit der Lake von vornherein beeinflusst wird, scheint mir noch ganz offen.

Man verwendet es, beiläufig bemerkt, in gemahlenem Zustande, und die verschiedenen Methoden stimmen darin so ziemlich überein, dass der gefangene ausgenommene Hering (auf See oder an Land) in mit solchem Salz gefüllten Trögen „gemehlt“ und sodann in Tonnen „gepackt“ wird, wobei die einzelnen Lagen noch je eine Handvoll Salz erhalten. Nun beginnt in den dicht geschlossenen Fässern der offenbar wichtige Vorgang der Lakebildung — wenigstens ist dieser von den nun einsetzenden mannigfachen Prozessen der groben Wahrnehmung noch zugänglich — entweder ausschliesslich auf Kosten der vorhandenen Feuchtigkeit und des Wassergehalts des Fischkörpers (Schottland) oder unterstützt durch Seewasser, Salzlake oder „Blutlake“-Zusatz (Holland). Zumal letzterem Verfahren redet man zur Zeit das Wort, und wir wollen beachten, dass dadurch sowohl die Konzentration der entstehenden Lake herabgemindert, wie auch reich mit Keimen beladene, bestimmte organische wie anorganische Verbindungen enthaltende Materie hinzugefügt wird.\*\*\*)

Die allmählich sich bildende Salzlake — welche, um ein Verderben zu verhindern, jedenfalls in der ersten Zeit alle Fische der Tonne bedecken muss — wird natürlich stets schon je nach der Art des benutzten Salzes etwas verschieden ausfallen, ihre Zusammensetzung muss aber auch u. a. nach der Zeitspanne ihrer Einwirkung auf den Fisch wechseln. Ältere und jüngere Lake werden nicht übereinstimmen, so wenig Positives darüber auch einstweilen

\*) Malm l. c. Übrigens werden wohl manche Handelssorten absichtlich sehr schwach gesalzen und sind dieserhalb weniger haltbar (Matjesheringe?).

\*\*) Mörner (Zeitschrift für physiol. Chemie 1897, S. 514).

\*\*\*, Blutlake: die aus den blutigen Abfällen (Kiemen, Eingeweide) durch Übergießen mit Seewasser bereitete hellrote durchsichtige Flüssigkeit, cfr. Malm l. c.

anzugeben ist. Es findet aber offenbar ein langsamer gegenseitiger Austausch der löslichen Bestandteile zwischen Fisch und Lake statt; ersterer tränkt sich allmählich mit Salz, wobei der Grad wohl im wesentlichen von der Einwirkungsdauer und Temperatur abhängt.\*). Für die Beschaffenheit der von mir näher untersuchten Lake ist also auch wohl das Alter noch von Bedeutung; über junge, in der Bildung begriffene ist durch unsere Feststellungen nichts ausgesagt.

Bezüglich des Methodischen darf ich auf breite Darlegungen verzichten. Art und Weise der verschiedenen Ermittlungen sind durch die Fragestellung hinreichend vorgeschrieben, unexakte Handhabung macht sie überhaupt überflüssig. Einzelheiten sind in der Zusammenstellung am Schluss aufgezählt, und es bedarf vielleicht nur noch kurz der Erwähnung, dass, da der qualitative Nachweis der Mikroorganismen in den bezüglichen Fällen durch Präparate geschah, die Menge derselben Sache der Schätzung war, somit allgemeine Ausdrücke wie „wenige, zahlreiche, massenhaft Bakterien“ nicht zu vermeiden sind. Es ist aber das wohl kein grosser Übelstand, denn das Aussehen eines von kleinsten Partikelchen gefertigten Präparats lässt sehr wohl ein richtiges Urteil über den Umfang des etwa sich abspielenden bakteriellen Zersetzungsprozesses zu. Besondere Färbermethoden sind dabei ganz überflüssig; wenn es sich nicht gerade um sehr kleine difficile Formen handelt, sind Bakterien — auch wo solche unbeweglich sind — unter Deckglas gerade so gut ungefärbt zu erkennen, im übrigen kann man, wo man will, jederzeit kurz durch Lösungen der gebräuchlichen Anilinfarben (Fuchsin, Methylenblau) färben.

## I. Der Einfluss des Kochsalzes auf mikrobiologische Zersetzungsprozesse.<sup>\*\*)</sup>

Das Salz spielt als Konservierungsmittel bekanntlich vielfach eine Rolle. Seine Leistung ist bislang im ganzen aber wohl etwas überschätzt worden, indem selbst relativ starke Gaben nicht unbedingt entwicklungshemmend wirken und am allerwenigsten — wie das hinlänglich bekannt — selbst bei längerer Berührung direkt tödlich sind. Wir kennen sogar relativ lebhafte mikrobiologische Zersetzungsprozesse in stärkeren Salzlösungen, und es ist übrigens ja klar, dass bei einer Erörterung der wachstumstörenden Wirkung solcher auch noch andere Momente (Zusammensetzung und chemische Reaktion des Substrats, Temperatur, Zeitdauer usw.) berücksichtigt werden müssen.

<sup>\*</sup>) König (Chemie der Nahrungs- und Genussmittel, 2. Aufl. 1888, 2. Teil, S. 180) gibt für den Salzgehalt des Heringsfleisches 14,47 pCt. an. Es ist das beiläufig die einzige bestimmte Zahl, die ich bezüglich dieser Dinge in der Litteratur auffinden konnte.

<sup>\*\*)</sup>) Einen genaueren Verfolg hat dieser Punkt in der bisherigen Litteratur meines Wissens nicht erfahren; von einzelnen hierher gehörigen Versuchen sehe ich dabei ab.

Zwecks Feststellung des Einflusses, welchen eine Salzkonzentration von 5—30 pCt. auf die Entwicklung von Mikroorganismen ausübt, wurde zunächst eine Reihe von Versuchen mit Eiweiss- und Zuckerlösungen angestellt. Zumal leicht zersetzbare eiweissreiche Flüssigkeiten sind zur richtigen Beurteilung der konservierenden Wirkung des Salzes besonders geeignet. Bezüglich aller Versuchsdetails verweise ich für allemal auf die Zusammenstellung am Schluss der Arbeit; hier seien nur die Resultate kurz wiedergegeben.

### 1. Versuche mit Blutalbumin.

(5 prozentige Lösung.)<sup>\*)</sup>

Kontrollflüssigkeiten zersetzen sich in bekannter Weise bereits in 1—2 Tagen unter Auftreten intensiven Fäulnisgeruchs. Bei 5 pCt. Salz trat nach einigen Tagen gleichfalls langsam Bakterienvegetation auf, die weiterhin massenhaft ist. Stärkere Salzgaben schienen zunächst vollständige Haltbarkeit zu bewirken, indem die Lösungen einige Wochen bakterienfrei bzw. -arm blieben und auch der Geruch keine Änderung zeigte. Überhaupt blieben sie dauernd frei von Fäulnisgeruch. Nach 3—4 Wochen war aber trotzdem in den Gefäßen mit 15—20 pCt. Kochsalz eine sehr lebhafte Bakterienvegetation nachweisbar und einige Wochen später auch da, wo 30 pCt. Kochsalz gegeben war. Es ergab sich also, dass selbst ein Salzgehalt von 30 pCt. nicht zur Konservierung im strengen Sinne des Wortes ausreicht, sondern nur eine Verzögerung in der Zersetzung zur Folge hat. Denn dass Bakterienvegetation und stoffliche Zersetzung im Grunde gleichbedeutend sind, bedarf keiner besonderen Erörterung.

Im übrigen steht die Schnelligkeit in der Spaltpilz-Vermehrung mit der Salzkonzentration in direktem Verhältnis; bei 5 pCt. Salz ist ihre Beeinflussung am geringsten, bei 15 pCt. schon sehr merklich, und noch erheblicher bei 25 pCt. Eine weitere Steigerung des Salzgehalts um 5 pCt. fällt schon so wesentlich ins Gewicht, dass zu der gleichen Zeit (nach 30 Tagen) Bakterien noch nicht mit Sicherheit nachzuweisen sind, während sie in den anderen Versuchen (mit 25 pCt. resp. 15 pCt.) bereits zahlreich resp. massenhaft in jedem Präparat auftreten.

Die Wirkung des Salzes ist hiernach zunächst eine die Zersetzung des Substrats verzögernde; sie reicht aber selbst bei der Gabe von 30 pCt. noch nicht zu einer vollständigen Unterdrückung der Organismenentwicklung aus. Weiterhin modifizierte sie aber in allen Gaben von 5 pCt. aufwärts den Zersetzungsvorgang in der besonderen Weise, dass an Stelle der andernfalls resultierenden Fäulnis (Entbindung stark riechender Gase) eine fast geruchlose Zersetzung des Albumins tritt. Das Nichtauftreten des charakteristischen Fäulnisgeruches darf uns also nicht verleiten, auf ein Ausbleiben bakteriologischer Zersetzungsvorgänge überhaupt zu schliessen.

\*) Rohes Handelspräparat (von Merck, Darmstadt); ebendaher das Fleisch-Pepton, doch reinstes Präparat.

Bezüglich der unter solchen Verhältnissen auftretenden Organismen sei folgendes bemerkt. Es handelt sich im wesentlichen um zwei morphologisch leicht unterscheidbare und oft vergesellschaftete Formen: einen Coccus und eine Stäbchenform, letztere zum Teil beweglich und zu Fadenverbänden zusammengetretend. Mit der Annahme, dass es sich hier wenigstens in der Hauptsache um zwei distinkte Spezies handelt, geht man wohl kaum fehl;\*) es sind dieselben, welche uns auch weiterhin in der Salzlake begegnen werden, so dass auf sie unten näher zurückzukommen ist.

## 2. Versuche mit Pepton.

(5 prozentige Lösung.)

Kontrollversuche ohne Salz ergaben vom zweiten Tage ab Trübung unter Fäulnisgeruch. Der Salzzusatz wurde hier gleichmässig auf 25 pCt. bemessen und ein Teil der Versuchsstofflösungen durch kohlensaures Natron schwach alkalisch gemacht, bezw. nach Sterilisieren (und Watteverschluss) mit der obigen Stäbchenbakterie in Platinöse geimpft (cfr. Tabelle).

Der Versuchsausfall war zunächst nicht gleichmässig, indem die nicht beimpften Flüssigkeiten viele Wochen unverändert blieben. Für uns genügen aber die positiven Resultate von 3 Versuchen, die nach 4—5 Wochen eine massenhafte Bakterienvegetation entwickelt hatten. Insbesondere wiesen die schwach alkalisch gemachten Lösungen zweier Versuche — nachdem auch sie die ersten Wochen sich unverändert gehalten hatten — nach jener Zeit eine lebhafte Trübe neben dichtem Bakterienhäutchen auf (ausschliesslich Stäbchen). Auch hier fand die Zersetzung ohne Auftreten von besonderen Gerüchen statt, war also für das Geruchsorgan nicht nachweisbar. Späterhin zeigten alle Kolben dichtes Bakteriensediment.

Somit halten 25 pCt. Kochsalz auch in Peptonlösungen die bakterielle Zersetzung nur unsicher und für eine gewisse Zeit auf, ändern solche hinsichtlich ihres Verlaufes aber gleichfalls ab. Die zur Beobachtung gekommenen Organismen waren ausschliesslich kleine Stäbchen ohne oder mit (wackelnder, drehender usw.) Bewegung. In einem Falle kam ausserdem *Penicillium glaucum* (als Decke) hinzu.

## 3. Versuche mit Zuckerlösung:

(10 pCt. unter Hefezusatz.)

Es wurde hier speziell der Salzeinfluss auf durch Hefe eingeleitete alkoholische Gärung geprüft. Die mit Bierwürze versetzte leicht gärfähige Zuckerlösung empfing ein nadelkopfgrosses Stück frischer Press-Hefe, deren Verhalten und Vermehrung genauer registriert wurde.

5 pCt. Salz bewirkten bereits eine stark ins Auge fallende Verzögerung der Hefeaufzucht; bei 10 pCt. war letztere erst nach 5—10 Tagen wahrnehmbar, sie blieb bei 15—20 pCt. auch nach vierwöchentiger Versuchsdauer für das Auge so gut wie ganz aus, wenngleich mikroskopisch sprossende Zellen nachweisbar waren.

\*) Dass es sich bei den Stäbchen um eine einzige Spezies in Reinkultur handelt, soll damit aber zunächst nicht behauptet werden. Hier haben spezielle Ermittelungen einzusetzen und die allgemeinen Angaben zu vertiefen.

Dafür entwickelten sich in den Flüssigkeiten mit 15 und 20 pCt. Salz vorzugsweise die der Presshefe beigemengten Schimmelsporen und lieferten nach 4—5 Wochen ansehnliche submerse Flocken sowie oberflächliche Polster von *Aspergillus glaucus* und *Penicillium glaucum*, mit lebhafter Conidienbildung und bei ersterem Pilz auch massenhafter Peritheciens-Fruktifikation. Der *Aspergillus*-Rasen des einen Versuchsgefäßes (20 pCt. Salz) nahm in den weiteren Wochen der Versuchsdauer den grösseren Teil der Flüssigkeitsoberfläche ein und bedeckte sich dicht mit den rostbraunen Früchtchen.

Übrigens kam es späterhin auch in mehreren dieser Versuche (bis 10 pCt. Salz) zu einem Bakterienauftreten unter Säuerung der Flüssigkeit (Essiggärung).

Hier nach verzögert ein Anwachsen des Salzgehalts gleichfalls die Zersetzung von Zuckerlösungen, ohne dieselbe jedoch selbst bei 20 pCt. ganz zu verhindern; es resultiert selbst bei dieser Dosis mit der Zeit noch (nach einigen Wochen) eine nennenswerte Organismen-Vegetation, deren zersetzender Einfluss naturgemäß successiv wächst. Die eigentliche Gärung (durch die benutzte Brönnereihefe) wird allerdings bereits durch Gaben von ca. 5 pCt. Salz ganz erheblich beeinträchtigt, wenngleich die Hefe selbst noch bei 10 pCt. Salz sich langsam entwickelt, aber bei 15—20 pCt. kaum noch sichtbare Fortschritte macht. Immerhin gelangen unter diesen Verhältnissen gewisse anderweitige Organismen noch zu einer leicht nachweisbaren Entwicklung.

Es lassen sich unsere Feststellungen in folgende Punkte zusammenfassen:

1. Die freiwillige Zersetzung eiweißhaltiger Flüssigkeiten wird selbst durch einen Kochsalzzusatz von 30 pCt. noch nicht unbedingt verhindert. Auftreten und Vermehrung der Bakterien werden durch die steigende Salzdosis nur verzögert; überdies weicht die Zersetzung insofern von der bei Salzabwesenheit eintretenden ab, als sie nicht die Erscheinungen der sogen. „Fäulnis“ darbot, sondern fast geruchlos verlief, somit wenig auffällig ist. Sie ist zunächst also nur mikroskopisch nachweisbar. Bei einem mittleren Salzgehalte (von 15—25 pCt.) kann sie schon nach 3—4 Wochen eine sehr lebhafte sein, sofern im übrigen auch die sonstigen Bedingungen günstige sind: Als solche dürfen zumal eine nicht zu niedrige Temperatur (Sommerwärme) sowie schwach alkalische oder neutrale Reaktion gelten. Im übrigen ist naturgemäß die Zusammensetzung selbst in ihren Einzelheiten ebenfalls von Bedeutung, sodass eine Verallgemeinerung auf alle Fälle nicht zulässig ist.

2. Die dabei auftretenden Bakterien gehören in der Hauptsache zwei verschiedenen Formen an. Die Stäbchenform überwiegt; ob diese einer einzigen oder mehreren Species entspricht, steht dahin. Die sehr kleinen unbeweglichen Coccen scheinen immer gleicher Art zu sein. Beide Formen entwickeln sich noch in fast salzgesättigten albuminhaltigen Flüssigkeiten.

3. Auch in zuckerhaltigen Flüssigkeiten sinkt die Intensität der durch Mikroorganismen (Hefen, Mycelpilze) bewirkten Zersetzung mit steigendem Salzgehalt, ohne dass jedoch bei

20 pCt. die Grenze erreicht wäre. Zumal gewisse Mycelpilze (*Penicillium glaucum* und *Aspergillus glaucus*) kommen bei dieser als Maximum angewandten Konzentration noch zu einer nennenswerten Entwicklung.

4. Die Grenze, bei der ein Leben von Mikroorganismen in nährstoffhaltigen Salzlösungen noch möglich ist, liegt jedenfalls oberhalb der Konzentration von 30 pCt., also nicht weit von dem Sättigungspunkte der Salzlösung. Vielleicht existiert eine solche aber überhaupt nicht, so dass selbst gesättigte Lösungen unter entsprechenden Verhältnissen eine Vegetation noch ermöglichen, sobald erst eine „Gewöhnung“ an die eigenartigen Umstände stattgefunden hat.\*)

5. Es ergibt sich aus dem obigen aber weiterhin, dass da, wo etwa in der Praxis eine tatsächlich konservierende Leistung des Salzes (auf Monate oder Jahre), d. h. ein strenger Ausschluss irgend welcher Organismen-Thätigkeit vorliegt, noch irgend welche andere Momente chemischer oder physikalischer Art hinzukommen müssen. Das Salz allein, selbst in starken Lösungen, vermag das nicht zu leisten. Vielleicht hat man es in mehreren derartigen Fällen aber nur mit einer Verzögerung oder Abänderung der zersetzen Wirkung in oben erwähnter Weise zu thun.

## II. Die Zersetzungsfähigkeit der Lake durch Mikroorganismen.

Die über den Einfluss starker Salzlösungen auf mikrobiologische Lebensprozesse mitgeteilten Befunde machen es jedenfalls fraglich, ob die Salzlake längere Zeit unverändert haltbar ist. Ein Kochsalzgehalt von ungefähr 24 pCt. — wie ihn meine Laken zeigten — genügt dafür jedenfalls noch nicht; zumal ist auch zu beachten, dass man es mit einer Flüssigkeit zu thun hat, die mancherlei Eiweissstoffe gelöst wie suspendiert enthält, somit ihrer Natur nach wohl als sehr zersetztlich gelten darf. Auf der anderen Seite kommt allerdings die höhere Gesamtkonzentration, sowie der Gehalt an mancherlei (teilweise auch schwach sauer reagierenden) Stoffen in Frage.

Es sind hier nun folgende Fragen zu beantworten:

1. Enthält die Salzlake lebensfähige Organismen? Art- und Zahlfeststellung.
2. Enthält sie lebensthätige Organismen? Feststellung der Vermehrung und Wirkung.
3. Findet eine messbare freiwillige Änderung der Lakezusammensetzung unter normalen oder etwas abgeänderten Verhältnissen statt?

\*) Als ganz „neutrale“ Flüssigkeiten gegenüber Organismen möchte ich Lösungen von Kochsalz im Hinblick auf die eigentümliche Wirkung auf Stoffwechselprozesse doch nicht ansehen. Neben der physikalischen Natur solcher Lösungen kommt hier auch noch Chemisches in Frage. Ein „Gift“ ist das Salz natürlich nicht, die Wirkung von Chloriden ist aber mehrfach eine eigenartige und nur chemisch zu erklären. Eine „faulige“ Zersetzung der Saftbestandteile — der diese andernfalls unterliegen würden, — wird durch das Salz z. B. auch bei der Vietsbohnen-Gärung verhindert.

Mit der Beantwortung dieser Punkte gelangen wir jedenfalls einen merklichen Schritt weiter, selbst wo damit diejenigen Prozesse, welche sich etwa vom Fange des Fisches bis zum Verkauf des fertigen Produkts abspielen, noch nicht näher berührt sind.\*)

### 1. Die Organismen der Lake.

Die erste der genannten Fragen ist bereits früher in positivem Sinne beantwortet worden\*\*). Neben der „Salzhefe“ findet man noch eine Reihe anderer Organismen, die hier zunächst aufgenannt werden sollen, und von denen einige jedenfalls weit verbreitet sind. Im übrigen beziehen sich — wie noch einmal bemerkt werden mag — die Feststellungen natürlich zunächst auf die mir vorgelegenen Laken von Emdener Heringen; wesentliche Unterschiede gegen solche anderer Provenienz sind allerdings kaum wahrscheinlich. Die Art der Isolierung habe ich bereits in der 1. Mitteilung näher beschrieben. Im übrigen verzichte ich zunächst auch hier auf eine besondere Benennung der Arten, die immer misslich bleibt, solange nicht der stets zu fordernnde Beweis für die thatsächliche Neuheit der Arten geführt werden kann. Hier handelt es sich nur um eine vorläufige Aufzählung.

1. *Salzhefe* oder *Salztorula*. Eine sehr kleine, meist kugelrunde Hefe, ausser dem bereits früher erwähnten noch dadurch charakterisiert, dass ihre Kulturen in Bierwürze einen eigenartigen Käsegeruch annehmen.

2. *Rosahefe I.* Der vorigen ganz ähnlich, aber in abgeleiteten Kulturen die hellrötliche Färbung behaltend. Tritt mehrfach auf den Gelatine-Platten (tiefliegend) auf und ist somit nicht selten.

3. *Penicillium glaucum* Link. Fehlt nie, ist also ziemlich häufig (wohl in Conidienform) in der Lake vorhanden. Entwickelt sich auch noch langsam auf Gelatine-Lake-Platten mit 10 pCt. Kochsalz. Erscheint gleichfalls in conidienbildendem Rasen auf der konzentrierten Lake bei längerem ruhigen Stehen (s. unten). Dass die Art gegen Salz wenig empfindlich ist, wird auch dadurch erwiesen, dass sie mehrfach auf 15—25 pCt. Salz haltigen anderweitigen Substraten (Würze, Albuminlösung) auftrat.

4. *Oidium I.* Ein einzelliger, relativ grosser, durch Spaltung sich vermehrender Organismus, wohl Entwicklungsform irgend eines Hyphenpilzes (*Penicillium*?). Wurde in konz. Lake wachsend gefunden.

5. *Bacterium I.* Meist ansehnliche gerade Stäbchen (bis  $3-4 \times 1 \mu$ ), unbeweglich oder in langsamer Bewegung, bislang ohne Sporenbildung beobachtet. Rasche Gelatine-Verflüssigung. In etwas älterer Lake oft in kolossalen Mengen, bevorzugt jedoch schwach alkalische Reaktion. Gegen starke Salzlösungen (mit Eiweiss) sehr unempfindlich und solche mit 20—25 pCt. Salz noch lebhaft unter Herbeiführung einer stark alkalischen Reaktion zersetzend.

\*) Die immerhin zu stellende Frage, ob die hier herangezogene Lake in diesem Stadium nicht überhaupt bereits das Produkt von Gärungsprozessen — somit eine „vergohrene“ Flüssigkeit — ist, bleibt damit ganz unerörtert.

\*\*) 1. Mitteilung. Centralblatt f. Bakteriologie u. Parasitenk., II. Abt. 1897, S. 209.

Abhandlungen des Deutschen Seefischerei-Vereins. Band III.

Die Form ist voraussichtlich identisch mit der in Albumin- wie Pepton-Lösungen mit bis 30 pCt. Salz auftretenden (s. oben) bezw. einer derselben und vielleicht eine der gemeinsten „Faulnisbakterien“, so dass sie nicht gerade zu der der Salzlake eigentümlichen Flora zu gehören braucht, doch sich jederzeit aus der Luft usw. einfinden kann.

6. *Mikrococcus I.* Sehr kleine (bis  $1\text{ }\mu$  im Dm. haltende) farblose Coccen, oft „Diplococcus“, seltener in kleinen Ketten (wenige Glieder); innerhalb der Lake an gefertigten Präparaten oft schwer auffindbar, doch auf Platten mit schwach alkalisch gemachter Salz-Gelatine (noch bei 10 pCt. Salz) in zahlreichen tiefliegenden Kolonien sich langsam entwickelnd. Kolonien wachsen in 2 bis 3 Wochen zu kaum mit blossem Auge wahrnehmbaren schwach graugelblichen Pünktchen heran. Ohne merkliches Verflüssigungsvermögen; in Würze gleichfalls sehr langsam ohne Gärungsscheinungen sich zu einem grauen Bodensatz entwickelnd.

Die Art ist nach allem identisch mit der in salzreichen Albuminlösungen (s. oben) mehrfach auftretenden; über die etwaige Zugehörigkeit zu dieser oder jener der bislang beschriebenen ähnlichen Spezies lässt sich erst nach genauerem Studium ein Urteil abgeben. Wie die vorhergehende scheint sie also mit zu der stehenden Flora salziger eiw isshaltiger Substrate zu gehören. Macht jedenfalls die Hauptvegetation älterer Laken aus.

Von den bislang genannten gilt (vielleicht mit Ausnahme des *Bacteriums*), dass sie durchweg in grosser Individuen-Zahl vorhanden sind und auf den Salz-Gelatine-Platten speziell der von mir untersuchten Lake je nach der zum Guss verwendeten Quantität zu Dutzenden und Hunderten erschienen. Ihnen schliessen sich noch einige an, die mehr vereinzelt auftraten und bei denen ich mich zunächst kurz auf Feststellung der Kolonien beschränkt habe, ohne die Frage der Zugehörigkeit zu dieser oder jener bekannten Spezies näher zu prüfen; bei dem Umfange der hier in Angriff genommenen Aufgabe lässt sich naturgemäß nicht jeder einzelne Punkt sogleich in der wünschenswerten Weise vertiefen.

Von ihnen sind zumal drei Mycelpilze ohne weiteres als distinkte Spezies zu erkennen. Ihre Kolonien wachsen gleichzeitig mit denen des *Penicillium glaucum* auf den Platten (mit nicht alkalisch gemachter, also schwach säuerlicher) Gelatine heran, stehen an Zahl aber merklich hinter diesen zurück. Ihre Farbe macht sie ohne weiteres kenntlich. Es sind:

7. Braune Kolonien (olivfarben) nach Aussehen und Farbe der Conidienträger wohl mit *Cladosporium herbarum* identisch. Zahl der vorhandenen Keime bis zur Hälfte der *Penicillium*-Keime betragend.

8. Fahlgelbe Kolonien (Räschen) nach Conidienträger-Aussehen wohl einer *Monilia* angehörend, vereinzelt auftretend. Grosses Conidien.

9. Weisse Räschen mit gleichfalls reichlicher Conidienbildung auf den Platten. Conidienträger oidium-artig mit farblosen Conidien; bald vereinzelt, bald an Zahl die braunen übertreffend. Hierher oder zu No. 8 gehört möglicherweise die oben als *Oidium I* bezeichnete einzellige Entwicklungsform.

Ein genauerer Verfolg dieser hier provisorisch aufgezählten Spezies an den abgeleiteten Kulturen wird über das weitere zu entscheiden haben.

Beiläufig seien nur die Bestimmungsversuche der Keimzahl erwähnt. Zahlangaben haben ihr Missliches, keinenfalls dürfen sie überschätzt werden; eine annähernde Vorstellung vermögen sie ja zu geben, sie werden aber ausserordentlich verschieden ausfallen, je nachdem die zu analysierende Probe aus dem Bodensatz, den mittleren oder den höheren Schichten der Lake gewonnen wird (falls also zuvor nicht für gleichmässige Verteilung der Keime gesorgt ist), ob diese oder jene Lakenprobe verwendet wird und anderes.

Ich begnüge mich damit, die Resultate einzelner Versuche hier wiederzugeben, bei denen das Material aus den mittleren Schichten der abgesetzten Lake genommen wurde. Die Bestimmung geschah in üblicher Weise mittelst Gelatineplatten, welche mit sehr kleinen Proben der zuvor auf das 100fache verdünnten Lake gegossen wurden (cf. Tabelle). Aus der Zahl der Kolonien und der Lakequantität berechnet sich ohne weiteres die Anzahl im Kubikzentimeter. Bemerkt sei noch, dass Hefe und Schimmelpilze auf sauren, Coccen auf schwach alkalisch gemachten salzhaltigen Platten bestimmt wurden. Gelatine 10 prozentig (mit 3—10 pCt. Chornatrium).

*Micrococcus I.* Aus  $\frac{1}{40}$  ccm Lake (bei 100facher Verdünnung 2,5 ccm) erwuchsen auf 4 Platten in Summa rund 400 tiefliegende Kolonien. Das entspricht 16 000 Keimen im Kubikzentimeter.

*Salztorula.* Aus  $\frac{1}{40}$  ccm Lake erwuchsen auf 4 Platten zusammen ca. 286 Hefekolonien. Das ergibt auf den Kubikzentimeter ca. 11 440 Hefezellen.

*Penicillium glaucum.* Aus  $\frac{1}{40}$  ccm Lake entwickelten sich ungefähr 65 Schimmelflecke, was 2600 Sporen im Kubikzentimeter entspricht.

Die Bestimmungen beanspruchen nur annähernde Genauigkeit, sie geben aber doch ein ungefähres Bild von dem Keimreichtum, der sich hiernach auf ca. 30 000 lebende Mikroorganismen im Kubikzentimeter beläuft.

## 2. Findet eine Lebenstätigkeit dieser Organismen innerhalb der konzentrierten Lake statt?

Die Frage ist leichter zu stellen als zu beantworten. Die sedimentreiche, auch nach monatelangem Stehen stets noch trübe Flüssigkeit, deren Konzentration ein Absetzen der suspendierten Teilchen erschwert (von den zahlreichen Fett-Tröpfchen ganz abgesehen), hindert den mikroskopischen Verfolg ausserordentlich, so dass er nur da glatt möglich ist, wo die Zahl der Mikroorganismen eine sehr grosse und alles andere übertreffende ist. Freilich kann dieser Fall vorkommen, ist aber wohl selten unmittelbar zu konstatieren. Nichtsdestoweniger sind wir aber in der Lage, zu zeigen, dass Mikroorganismen in der konzentrierten Salzlake sich sowohl entwickeln als auch ganz bestimmte Wirkungen zeigen können. Wenn nun diese

Lebensäusserungen in kleineren Zeiträumen auch nicht gerade sehr auffällig sind, so sind sie trotzdem doch wohl messbar, und allein die Feststellung dieser Thatsche erscheint denn doch sehr wesentlich, indem aus ihr bereits hervorgeht, dass die Lake nicht eine in ihrer Zusammensetzung und Beschaffenheit feststehende und unveränderliche Flüssigkeit sein kann. Die tatsächlich stattfindenden chemischen Umformungen, wie sie erst nach längeren Zeiträumen messbar sind, bleiben hier zunächst unerörtert.

Dass zunächst die Salzhefe noch innerhalb der Lake sich weiter entwickeln kann, lässt sich zweckmässig in der Weise feststellen, dass man geklärte Lake direkt als Kultur-Substrat benutzt, in das eine Platinöse einer Reinkultur ausgesät wird. Wasserklar und frei von allen suspendierten Teilchen erhält man jene relativ leicht durch einfaches Filtrieren mittels eines guten (event. doppelten) Filters; sie stellt dann eine helle, weingelbe Flüssigkeit von sehr sauberem Aussehen dar und wurde in dieser Gestalt wiederholt auch für die späteren Versuche verwendet („Filtrierte Lake“). Dass Konzentrations-Änderungen dabei sorgfältig vermieden werden müssen (kein vorheriges Anfeuchten des Filters, möglichste Behinderung der Verdunstung); ist selbstverständlich.

In dieser Flüssigkeit ist eine langsame Vermehrung der Hefe bereits mit blossem Auge festzustellen, indem die zunächst unsichtbare minimale Aussaat binnen einigen Wochen sich zu einem schwachen grauen Bodenanflug entwickelt, welcher mikroskopisch Zellen in allen Stadien der Sprossung zeigt. Es wächst die Hefe also tatsächlich noch in einer Lösung mit 24—25 % Kochsalz. Späterhin wird das Bild dann durch krystallinische, den Boden bedeckende Salzabscheidungen getrübt, wie solche Folge der trotz Watteverschluss langsam eintretenden Verdunstung sind.

Dass weiterhin *Penicillium glaucum* in der Lake noch Lebensäusserungen zeigt, ergibt sich ohne weiteres aus dem Erscheinen langsam ergrünender Räschen auf der Oberfläche längere Zeit hindurch aufbewahrter Lakeproben.

Das obengenannte *Oidium I* wurde, wie schon bemerkt, in einem Kulturversuch mit Lake unter Gelatine-Zusatz (Grosser Erlenmeyer-Kolben mit Watteverschluss, s. auch unten) in der Fortentwicklung angetroffen.

Zwecks Nachweises bakterieller Lebensvorgänge wurde zunächst resultatlos einige Wochen lang ein direkter mikroskopischer Verfolg zweier luftdicht abgeschlossener Proben (Gefässer mit Glasstopfen) versucht; die Vermehrungstätigkeit der Organismen ist im Durchschnitt offenbar keine so lebhafte, dass der Erfolg so rasch ins Auge springt. Vielleicht kommt da noch ein besonderer verzögernder Einfluss — bewirkt durch die säuerliche Reaktion — mit in Frage. Ein besseres Resultat gaben jedoch schon Versuche mit filtrierter Lake, zumal beim Einstellen der mit ihr gefüllten Bechergläschen in den feuchten Raum (grosse feuchte Kammer). Hier trat alsbald eine lebhafte spontane Zersetzung ein, die klare Flüssigkeit trübte sich nach ungefähr 2 Wochen und entwickelte alsbald ein dichtes grauweisses Bakterienhäutchen, dessen Individuen nach Aussehen und Verhalten gleichmässig dem obengenannten

Bakterium I entsprachen. Die massenhafte Spaltpilzentwicklung war von einer besonderen Geruchsänderung, dem Auftreten alkalischer (lakmusbläuender) Reaktion, sowie Ausscheidung zahlreicher kleiner heller (rhombischer?) Krystalle begleitet.

Diese spontane Zersetzung ist freilich nicht in dem Masse beweisend, wie man zunächst glaubt. Es spielt da ein anderes mit, und das ist die nachweisliche Wasseraufnahme aus der feuchten Atmosphäre, durch welche eine Konzentrationsänderung herbeigeführt wird. Der Salzgehalt der Lake in diesem Zustande betrug nämlich nur noch kaum 20 pCt.\*.) Immerhin haben wir auch hier eine lebhafte bakterielle Zersetzung einer starken Salzflüssigkeit, die ihrem Wesen nach — ohne gerade die abschreckenden Symptome dieser zu zeigen — im übrigen wohl einer sogen. „Fäulnis“ entspricht.

Zu einer anderen Versuchsanordnung übergehend, beschloss ich endlich, direkt die Wirkung der etwaigenfalls innerhalb der konzentrierten Lake thätigen Bakterien zu messen, was hinsichtlich der einen Spezies offenbar durch Konstatierung der Gelatine-Verflüssigung möglich war. Dazu war die Lake direkt in einen festen Gelatine-Nährboden zu verwandeln, aus dessen etwaigem Wiederflüssigwerden ohne weiteres auf eine Spaltpilzthätigkeit zu schliessen war.

Es wurde also in einem Teil einer beliebigen Portion Salzlake nach Erwärmen auf dem Wasserbade die erforderliche Gelatine-Menge stückweise gelöst und kurz vor dem Wiedererstarren der andere Lakeanteil (dessen Organismen also nicht durch das Erhitzen gelitten hatten) beigemischt. Hiervon wurde auf Platten, in kleine Bechergläser usw. ausgegossen und in der Kammer oder unter Wattepropfen das weitere beobachtet.

Der Erfolg war dem Anschein nach zunächst ein schlagender. Wenn auch der beabsichtigte mikroskopische Verfolg der Bakterienentwicklung auf den noch festen Platten misslang, so begannen diese sich doch bereits nach 4—5 Tagen zu verflüssigen und waren nach der doppelten Zeit vollständig verflüssigt sowie dicht mit Stäbchen und Coccen bedeckt. Es leiden diese Versuche tatsächlich aber an dem gleichen Übelstande wie vorher, indem die salzreiche Masse offenbar alsbald Feuchtigkeit anzieht und so ihre ursprüngliche Konzentration um etwas sinkt. Dieser Umstand genügt aber offenbar, um alsbald die lebhafteste Bakterien-Entwicklung zu ermöglichen, die nunmehr zu einer rapiden Verflüssigung unter Zersetzungsgeruch führt. Dass die Wasseranziehung, zumal in Bechergläsern mit kleinerer Oberfläche, binnen 10 Tagen nicht sehr erheblich ist, erwies der Titrierversuch mit einer herausgenommenen Probe, indem sich der Salzgehalt noch auf 23 pCt. stellte.\*\*) Trotzdem war die ganze Masse verflüssigt, und über einem voluminösen grauen Sediment (unfiltrierte Lake!) stand die mattklare bakterienreiche Flüssigkeitsschicht. Da der Kochsalzgehalt nur um ungefähr 1 pCt. gesunken (ursprüngliche Lake mit 24 pCt.), so hat es fast den Anschein, als ob eben dies relativ

\*) 1 ccm erforderte rund 84 ccm Silberlösung = 19,89 pCt. Na Cl (bezw. Chloride).

\*\* Es brauchte 1 ccm der Lake (auf 100 ccm verdünnt) rund 89,2 ccm  $\frac{1}{10}$  Silberlösung (= 28,08 pCt. Chlornatrium).

geringe Sinken das Ausschlaggebende ist und es den Bakterien für die alsbald stattfindende massenhafte Entwicklung gleichsam nur auf den Unterschied ankommt.

Um das, was hier ursprünglich erwiesen werden sollte, zu beweisen, bedarf es jedenfalls des völligen Ausschlusses störender Faktoren, was nur durch Ausguss der Gelatine-Lake unserer geschilderten Darstellung in an freier Luft stehende, verschlossene Kolben zu erreichen war. Ich habe das dann auch — und zwar mit etwas anderem Erfolg als oben — versucht. Übrigens darf nicht übersehen werden, dass durch Beimengung der schwach säuerlichen Gelatine die Acidität der Lake verstärkt wird.

Hier blieb nun jene schnelle Verflüssigung zunächst ganz aus. Die gelatinierten Massen änderten sich auch noch nach 3 Wochen nicht merklich: Das beweist, dass eben oben nur der Feuchtigkeitseinfluss das Bestimmende für die rasche Veränderung war. Allerdings wurde nunmehr auch hier die Sache anders, indem die feste Masse langsam flüssig wurde und reichlich Organismen aufweist (*Oidium I.*). Es findet also tatsächlich eine langsam wirkende Lebensäußerung derselben in der ursprünglichen konzentrierten Lake statt, und diese Erscheinung ist sicher nur eindeutig. Merklich schneller tritt dieselbe überdies schon ein, sobald die Lake-Gelatine vorher (durch festes kohlensaures Natron) vorsichtig abgestumpft und schwach alkalisch gemacht ist. Dann wimmelt es nach einigen Wochen dergestalt von Bakterien (vorwiegend Stäbchen), dass jedes aus der kleinsten Menge unter Verrühren mit Wasser gefertigte Präparat davon erfüllt ist. Eine geringfügige Reaktionsänderung übt somit schon einen merklichen Einfluss durch Begünstigung der spontanen Zersetzung. Dies Moment ist immerhin von einem gewissen Interesse; wir sehen, dass die relative Haltbarkeit der Salzlake keineswegs allein eine Folge des Salzgehaltes ist, sondern dass dabei noch Stoffe mitwirken, über deren genauere Natur wir eigentlich noch nichts wissen. Voraussichtlich sind das eben sauer (lakmusrotend) reagierende Salze und möglicherweise Phosphate, die dann aus dem Blut oder Fleischkörper des Fisches stammen. Bei dem in der Praxis als „holländisches“ bezeichneten Verfahren, wo den gepackten Tonnen eine Portion sogen. „Blutlake“ gegeben wird, beeinflusst man scheinbar auf diese Weise im voraus bereits unbewusst die chemische Beschaffenheit der sich bildenden Lake, vermehrt allerdings auch gleichzeitig die Zahl der Keime beträchtlich.

Wir müssen dabei auch beachten, dass die durch jene stäbchenförmigen Bakterien bewirkte Zersetzung, welche auf Herstellung einer alkalischen Reaktion hinarbeitet, wohl kaum eine erwünschte sein kann. Der durch sie der Lake mitgeteilte Geruch — welcher alsbald den ursprünglichen verdrängt — ist nicht gerade ein angenehmer (wenn auch bei weitem kein Fäulnisgeruch) und gleiches dürfte wohl von dem Geruch und Geschmack der in ihr liegenden Fische gelten. Allerdings muss man hier wohl mangels weiterer Erfahrungen mit seinem Urteil zurückhaltend sein, denn auch der Gär-Strömling, bei dessen Herstellung wohl ähnliche, wenngleich weit stärkere Zersetzung eine Rolle spielen, hat seine Liebhaber.

Jedenfalls ist durch diese verschiedenen Versuche klargestellt, dass in einer Flüssigkeit von der Beschaffenheit unserer konzentrierten Salzlake des Handels Lebensäußerungen von

Organismen stattfinden können, sowie normalerweise stattfinden und wir sie durch ihren Effekt in nicht allzulanger Zeit selbst dem Auge wahrnehmbar machen können. Dass sie unter den gewählten Bedingungen zunächst nur langsam sich abspielen, ändert daran nichts, denn wir wissen zunächst noch garnicht, welche Momente unter andern Verhältnissen da vielleicht eine Wandlung veranlassen können. Wir operieren immer mit einer im Grunde ziemlich beliebigen, vom (voraussichtlich salzärmeren) Fischkörper abgetrennten Lake, mit der Temperatur, wie sie den Versuchen gerade durch die jeweils herrschende Luftwärme gegeben wurde,\* ) mit den Sauerstoff-Verhältnissen, wie sie bei an der Luft stehenden Versuchen und Kulturen vorliegen. Feuchtigkeitsverhältnisse der Atmosphäre, besonders Zusammensetzung der Flüssigkeit, Wärme, und vielleicht auch Sauerstoff-Mangel oder -Zutritt sind aber mehrfach sehr wesentliche Dinge. Man darf wohl annehmen, dass auch die Praxis im eigenen Interesse schliesslich einmal zu einem genaueren wissenschaftlichen Verfolg der einzelnen Operationen übergeht und die bis zur Ausbildung der „reifen“ Lake sich abspielenden Vorgänge klarlegt.

### 3. Die Änderung der Lake-Zusammensetzung.

Die durch Mikroorganismen bewirkte allmähliche Änderung in der Zusammensetzung unserer Lake kann offenbar nur da eine beträchtlichere sein, wo die Verhältnisse dafür besonders günstig liegen. Normalerweise wird sie wohl nur langsam verlaufen, da unter anderem die in Berührung mit der Luft (Verdunstung) notwendig eintretende Steigerung der Gesamtkonzentration dem noch entgegenwirkt. Eine exakte Messung — wenn solche in kürzeren Zeiträumen möglich ist — erfordert besondere chemische Methoden. Nicht destoweniger ist es aber doch möglich, die Thatsache an sich unter Zuhilfenahme etwas grösserer Zeiträume in einfacherer Weise darzuthun. Es genügt hierzu die Beachtung der Geruchsänderung, denn eine solche hat tatsächlich mit der Zeit statt; in längeren Zeiträumen vollzieht sich also, nach dem Effekt gemessen, dasselbe, was im feuchten Raum in Tagen eintritt.

Man bewahrt demgemäß zwecks Nachweises dieser Thatsache die Flüssigkeit in mit eingeschliffenem Glasstopfen versehenen Gefässen auf — damit wird gleichzeitig dem Einwurf begegnet, dass der charakteristische Geruch sich etwa verflüchtigt habe. Frei oder unter Wattepropf (in Kulturkölbchen) führt die Verdunstung alsbald zu einem stetig zunehmenden Auskristallisieren zweier Salze (Chlornatrium-Würfel und nadelförmige zu Krusten, Bündeln oder Kugeln angeordnete Krystallchen eines noch nicht näher untersuchten Salzes),\*\*) das man zumal an filtrierter Lake gut verfolgen kann, wobei die gelbliche, erst klare Flüssigkeit, schliesslich bis auf geringe Feuchtigkeitsreste vollständig schwindet. Stellt man andererseits Gläser oder Schälchen dieser filtrierten oder auch unfiltrierten Lake zwecks weiteren Verfolgs in den feuchten Raum (grosse Kammer), so kommt wieder der Übelstand der Feuchtigkeits-

\* ) In der Versuchszusammenstellung am Schluss wurden dementsprechend wenigstens die genaueren Zeitangaben (Datum) bemerkt.

\*\*) Weisse, auf dem Platinblech unverbrennliche Massen (Sulfat oder Phosphat, vielleicht Gyps).

aufnahme (deren absolute Menge aber nur eine winzige ist) zur Wirkung, und es beginnt alsbald eine lebhafte Zersetzung, die zumal in der filtrierten Flüssigkeit durch eintretende Trübe und Häutchenbildung augenfällig ist.

Unter Glasstopfen Wochen oder Monate der Ruhe überlassen, findet zunächst eine Sedimentierung der suspendierten Teilchen (Fischfragmente, Krystalle) statt und über dem grauen Bodensatz sammelt sich eine gelbliche, allerdings dauernd geträbt (Fetttröpfchen) bleibende Flüssigkeit, die immerhin bereits weit geeigneter für die mikroskopische Untersuchung ist, wenns schon sie von allerlei Fremdteilchen noch keineswegs frei ist. Den ersten mit unbedingter Sicherheit als solche nachweisbaren Bakterien begegnet man gewöhnlich erst nach Wochen: Im übrigen muss ja die Zahl auch schon ziemlich gross sein, um ein Auftailligwerden in jedem vom kleinsten Partikelchen gefertigten Präparat zu veranlassen. Zumal sind die Coccen immer diffizil nachzuweisen, weit leichter liegt der Fall bei den Stäbchen, besonders wo sie zu kleinen Verbänden zusammenentreten oder gar Bewegung zeigen.

Allmählich verschwindet nun der charakteristische Lake-Geruch, die Flüssigkeit wird fast geruchlos oder schwach ranzig (Fett) riechend. Dass hier Änderungen in der Zusammensetzung vor sich gehen, folgt daraus fast zwingend; weiterhin wird der Geruch „dumpf“ oder „muffig“, ähnlich dem, wie ihn die sich im Feuchten zersetzende Lake zeigt. Zu dieser Zeit wimmelt die ganze Masse von Bakterien (Coccen und Stäbchen), die selbst der Oberfläche kolonieweis mit blossem Auge sichtbar aufsitzen und in den Präparaten reichlich mit Pilzfäden gemischt sind, die wohl meist dem hier gleichzeitig in Rasenform zur Entwicklung kommenden *Penicillium glaucum* (s. oben) angehören.

Die Lake zeigt also nach einigen Monaten — Wärmeverhältnisse, Zusammensetzung usw. sind hier bestimmt mit von Bedeutung — eine freiwillig eingetretene vollständige Zersetzung, durch welche ihre mikroskopische wie chemische Beschaffenheit geändert wird. In welchem Masse neben dem Eiweiss auch das Fett und etwaige andere Bestandteile zertrümmert werden, mag dahingestellt bleiben, jedenfalls muss eine tiefer eingreifende Stoffveränderung vor sich gehen, die mancherlei neue Produkte liefert.\*). Neben den anorganischen Salzen, Amido- und Ammoniakverbindungen dürften zunächst wohl noch Ölmassen als Residuum bleiben, wie das ja auch mit der Thatsache des praktischen Lebens stimmt, dass die alte Lake einen bescheidenen Wert nur noch mit Rücksicht auf den Gehalt an letzteren hat (Verwendung in der Schlosserei zum Einölen).

Es liegt — beiläufig bemerkt — auf der Hand, dass eine derartige Zersetzung, wo sie z. B. innerhalb der Handelsware aus irgend einem Grunde vorzeitig auftritt — und diese Möglichkeit ist immerhin nicht ganz ausgeschlossen —, notwendig zu einer wesentlichen Geschmacksbeeinflussung des Fisches führen muss.

\*) Diese unter bezeichneten Umständen gealterte Lake nahm jedoch auch nach Monaten keine alkalische Reaktion an, wie das durchweg bei beschleunigter Zersetzung der Fall ist. Man findet da ganz vorwiegend jene Coccen in massenhafter Vegetation (cfr. Fig. 8).

In weit kürzerer Zeit vollzieht sich naturgemäß jener Zersetzungsvorgang, sobald einzelne der Bedingungen modifiziert werden. Fraglos wird ja schon die Versuchstemperatur einen gewissen Einfluss üben, somit niedere Wärmegrade verzögernd wirken und andauernde Optimal-Temperatur ihn begünstigen. Das bleibt noch Sache einer speziellen Feststellung. Hier mögen nur noch zwei Momente erwähnt werden, die bislang wenigstens etwas näher verfolgt sind: Konzentrations- wie Reaktionsänderung. Die Feststellung erfolgt zweckmäßig wieder an filtrierter Lake, giebt übrigens auch mit der ursprünglichen selbstredend die gleichen, wenn schon weniger gut ins Auge fallenden Resultate.

Der Erfolg der Verdünnung ist bei Verwendung von viel Wasser natürlich ein sehr schneller. Auf das mehrfache Volumen verdünnte Lake geht rasch in Zersetzung über (starke Bakterientrübung nebst Zersetzungsgeruch, der im extremen Falle der „Faulnis“ ist). Verdünnung mit dem gleichen, halben oder viertel Volumen Wasser (cfr. Tabelle) leitet die Erscheinung gleichfalls noch ein, — die Schnelligkeit des Eintretens der Beschaffenheitsänderung steht ziemlich im umgekehrten Verhältnis zu dem Wasserzusatz, sodass die auftretende Bakterientrübe bei einem Viertel Volumen Wasser erst nach ungefähr 2 Wochen deutlich hervortrat. Bei einem Achtel Volumen Wasser wurde ein Resultat in den ersten 3 Wochen nicht mehr erhalten, die Versuchsanstellung war aber insofern nicht ganz exakt, als mit offenen Reagenzgläsern (also andauerndem Wiederverdunsten) gearbeitet wurde und hier alsbald das ursprüngliche (durch Marke bezeichnete) Volumen wieder hergestellt war. Aber trotzdem wurde hier weiterhin auch Spaltpilzvegetation gefunden. Das steht im übrigen ja auch im Einklang mit unseren Versuchen über das Verhalten filtrierter Lake (in Schälchen) im feuchten Raum, wo trotz nur geringer Wasseraufnahme nach ungefähr 3 Wochen eine völlige Beschaffenheitsänderung (unter intensiver Bakterienträubung) eingetreten war. Es genügt ein relativ unbedeutender Anstoß zur Herbeiführung einer umsichtgreifenden Zusammensetzungsänderung — ähnlich einer Störung des durch Zusammenwirken verschiedener Faktoren erzielten Gleichgewichts.

Übrigens kommt es bei dieser, eine lebhafte alkalische Reaktion herbeiführenden schnellen Zersetzung stets gleichzeitig zur Abscheidung zahlreicher glasheller Krystallchen von wohlentwickelter Tafelform, deren Zusammensetzung noch dahinstehet; sie sind ihrer chemischen Natur nach vermutlich identisch mit jenen, die sich beim Alkalischmachen der filtrierten Lake nach einiger Zeit in grosser Zahl als krystallinischer Bodensatz absetzen, nachdem gewöhnlich zunächst ein voluminöser Niederschlag entstanden. Sein späteres Krystallinischwerden deutet wohl auf ein Phosphat (Mg-Ammon-Phosph.?), für dessen Ausfällung in beiden Fällen das Alkalischwerden bestimmend ist.

Die Annahme, dass schon eine derartige künstlich herbeigeführte Reaktionsänderung, wie sie als Folge der Spaltpilzvegetation auftritt, genügt, um letztere sogleich sehr lebhaft hervorzurufen, traf jedoch nicht zu; sie wirkt allerdings — wie schon hervorgehoben — merklich beschleunigend, doch so ganz plötzlich geht die Sache nicht und es vergehen immerhin

1—2 Wochen bis zu dem augenfälligen Effekt. Dasselbe Hindernis wird von den Organismen jedenfalls ungleich leichter überwunden, sobald ihnen eine geringfügige Dichteänderung gleichsam die Angriffspunkte schafft. Damit wird auch schon nahegelegt, dass nicht etwa ein Nährstoffmangel mitspricht — Zucker-, Pepton-, Gelatine-Zusatz waren überdies ohne merklichen Einfluss auf die Zersetzungsfähigkeit —, denn die Lake ist nach allem bereits ungemein reich an zersetzbaren Stoffen, und es liesse sich vielleicht eher die Frage aufwerfen, ob das eigentlich Hinderliche nicht vielmehr in einer Ansammlung bereits vorhandener Stoffwechselprodukte besteht. Die tatsächliche Weiterzersetzung im Laufe der Zeit scheint dem entgegenzustehen, doch lässt sich darüber erst etwas aussagen, sobald die Prozesse näher bekannt sind, welche sich während des „Reifens“ in dem von uns zunächst ganz unberücksichtigt gelassenen ersten Zeiträume abspielen.

## Resumé.

1. Aus den eingangs mitgeteilten Versuchen ergab sich, dass ein Zusatz von 30 pCt. Salz noch nicht ausreicht, in zersetzbaren Flüssigkeiten Vegetationen von Mikroorganismen (und somit Zersetzung) auf die Dauer auszuschliessen. Die Verzögerung wächst jedoch, wie zu erwarten, mit steigender Konzentration. Durch einen Salzgehalt von 5 pCt. aufwärts wird aber in den benutzten Eiweissflüssigkeiten das Auftreten fauliger Zersetzung verhindert; die dabei auftretenden Bakterien sind in der Hauptsache zweierlei Art (Coccen und Stäbchen).

2. Die zu den Versuchen verwendete, rund 24 pCt. Kochsalz enthaltende, nährstoffreiche Lake aus Tonnen reifer, marktfähiger, Emdener Heringe ist reich an lebenden Mikroorganismen verschiedener Art (Hefen, Bakterien, Mycelpilze), von denen mehrere mit den obigen übereinstimmen und somit für salzreiche Substrate charakteristisch zu sein scheinen. Gleichzeitig sind dieselben in ihr noch lebenstätig und vermögen sich langsam weiter zu entwickeln. Im ganzen setzt die Lake auf Grund ihrer Zusammensetzung dem aber einen beträchtlichen Widerstand entgegen, so dass die Wirkung erst nach Wochen oder Monaten messbar ist.

3. Die Lake-Zusammensetzung ändert sich aber — Hand in Hand mit einer fortschreitenden Organismen-Vermehrung — nachweislich mit der Zeit, so dass sie endgültig in totaler Zersetzung begriffen ist, ohne aber Fäulnisgeruch anzunehmen. Der ihr ursprünglich eigentümliche Geruch geht verloren. Eine derartige Zersetzung kann selbst noch in Kochsalzwürfel abscheidenden (somit salzgesättigten) Laken weitergehen.

4. Der einer Mikroorganismen-Vegetation entgegenarbeitende Widerstand setzt sich im wesentlichen aus drei Faktoren zusammen: Gesamtkonzentration, Salzgehalt, Reaktion (wobei Temperatureinfluss sowie etwaige Wirkung unbekannter Bestandteile noch offen bleiben). Änderung dieser Punkte im ungünstigen Sinne zieht beschleunigte Zersetzung nach sich.

5. Zumal wirkt in diesem Sinne eine relativ geringfügige Wasseraufnahme, wie solche z. B. im feuchten Raum stattfindet. Schon in kurzer Zeit kann hier eine lebhafte bakterielle Zersetzung in Laken mit noch über 20 pCt. Salz eintreten, die übrigens unter Geruchsänderung (doch ohne eigentlichen Fäulnisgeruch) verläuft. Unter rascher Änderung der Zusammensetzung wird die chemische Reaktion eine lebhaft alkalische. Inwieweit hier bereits in der Lake vorhandene Bakterien oder solche der Atmosphäre eine Rolle spielen, bleibt dahingestellt, ist übrigens auch irrelevant.

6. Hinsichtlich der wesentlichen Punkte lassen sich die für eine bestimmte Lake ermittelten Verhältnisse wohl ohne grosse Bedenken auf andere Laken, die der hier vorgelegenen in chemisch-physikalischer Beziehung ähnlich sind, übertragen. Im übrigen bliebe aber noch festzustellen, inwieweit da besondere Umstände (Alter, physikalische Bedingungen, fort-dauernde Berührung mit dem toten Fischkörper — die hier ausgeschlossen war — und anderes) von Einfluss sein können.

Eine vollständige Unterdrückung mikrobiologischer Prozesse kann durch eine derartige Flüssigkeit unter für jene halbwegs günstigen Bedingungen jedenfalls nicht erzielt werden.

Da im übrigen die spontane Zersetzung im wesentlichen eine bakterielle ist, somit auch durch die chemische Reaktion stark beeinflusst wird, so ergibt sich — wie kurz angedeutet werden mag — als praktische Konsequenz, dass jedenfalls die Salzwirkung zu einem guten Teil durch andere Momente ersetzt werden kann. Es wäre das auch der Weg zum Entscheid der allerdings nicht mehr in unser Thema gehörigen Frage, ob mikrobiologische Prozesse zu keiner Zeit beim Reifen von Fisch und Lake eine Rolle spielen.

Hannover, Oktober 1897.

Techn.-Chem. Laboratorium der Techn. Hochschule.

## Experimentelles.

### I. Einfluss steigender Kochsalzgaben (5—30 pCt.) auf die Zersetzung von Eiweiss- oder Zuckerlösungen.

	Nach 10 Tagen	Nach 30 Tagen	Nach 50—60 Tagen	
1. Glaskolben mit 5 prozentiger Fleischpepton-Lösung (25 ccm); 25 pCt. Kochsalz. Nach Watteverschluss und Aufkochen mit Bakterien (Bact. I) geimpft. (Durch $\text{Na}_2\text{CO}_3$ schwach alkalisch gemacht. 11. V.)		Nach 30 Tagen Hautbildung und Trübe. Mikr.: Massenvegetation v. Stäbchen. Geruch unverändert (kein Fäulnis-Geruch!).		
2. Ebenso, doch nicht neutralisiert. (11. V.) (also lakmus-rötend).	Ohne sichtbare Veränderung (klar und ohne Vegetation).	Nach 40 Tagen Bakt.-Häutchen am Rande, Mikr.: wie in 1 = massenhafte Stäbchenvegetation.	Überall starke Sedimententwicklung (Bakterien) unter den wieder geklärten Flüssigkeiten. Geruch so gut wie unverändert (kein Fäulnisgeruch).	
3. Peptonlösung wie No. 2 (25 pCt. Salz). Frei an der Luft stehend in offenem Kolben. (11. V.)		Bakterienvegetation nach ca. 50 Tagen wie vorher (gleichzeitig Penicillium-Rasen).		
4. Ebenso, doch schwach alkalisch gemacht. (11. V.)		Ebenso nach ca. 40 Tagen Bakterienzersetzung (Geruch wie vorher ohne wesentliche Änderung).		
5. Reine Peptonlösung ohne Salzzusatz. (11. V.) (Kontrollversuch).	Starke Trübung und Zersetzung bereits vom 2. Tage ab (Fäulnisgeruch).			
6. Blutalbumin, 2,5 g mit 50 ccm Wasser in offenem Kolben stehend. 5 pCt. Kochsalz (2,5 g). 15. V. (Reaktion der trüben Flüssigkeit: schwach lakmusblauend).	Schwache Geruchsänderung.	Geruch wenig verändert. Massen-Vegetation von Bakterien. Starke Lakmusbläuing.	Lakmus stark blau; Intensität mit steigendem Salzgehalt abnehmend. Geruch überall kaum verändert (kein Fäulnisgeruch) trotz stark fortgeschrittener Zersetzung. Trübe Flüssigkeiten m. starkem Sediment.	
7. Ebenso mit 15 pCt. Kochsalz (7,5 g). (Das benutzte Salz ist in allen Fällen chem. reines Chlornatrium.)	Unverändert.	Geruch unverändert. Mikr.: Massenhafte Bakt.-Vegetation (Stäbchen und Coccen), Fadenverbände und Sporen, schwache Bewegung, oberflächlich: Penicillium-Rasen.	Anscheinend unverändert. Mikrosk.: Zahlreiche Bakterien (Coccen und Stäbchen, diese z. T. beweglich). Lakmus rötlich-blau.	
8. Ebenso mit 25 pCt. Kochsalz (12,5 g).		Geruch unverändert. Mikr.: Zahlreiche kleine Stäbchen, einzeln oder kurze Verb., schwache Bewegung.		
9. Ebenso mit 30 pCt. Kochsalz (15 g).		Geruch unverändert. Mikr.: Zweifelhaft. Ver einzelt Stäbchen.		
	Nach 2 Tagen	Am 5. Tage	10 Tage	30 Tage
10. Zuckerlösung 100ccm m. 10g Dextrose und 10 ccm Bierwürze. Kolben sterilis. und Watteverschluss. Aussaat von Spur Presshefe (nadelkopfgr. Stück, so auch in folgenden Versuchen. 15. V.).	Starke Hefentrübung und Bodensatz und so auch weiterhin (Gärung).	Wie vorher.	Desgl.	Ebenso neben Hefe Bakterien. Geruch säuerlich (Essiggärung).
11. Ebenso, aber 5 pCt. Kochsalz (5 g) zugesetzt.	Schwacher Hefebodensatz.	Stärkerer Hefebodensatz.	Trübe und Bodensatz.	Wie No. 10.
12. Desgl., doch mit 10 pCt. Salz (10 g).	ohne Veränderung	Schwache Hefenwolke am Boden, sonst klar.	Hefenvegetation in der Flüssigkeit.	Merkliche Zunahme der Organism.-Entwicklg. wie No. 10.
13. Desgl. mit 15 pCt. Salz (15 g).		0	Einzelne Schimmelmycelien.	Schimmelrasen. Bakterien. Hefen.
14. Desgl. mit 20 pCt. Salz (20 g).		0	Sehr kleine Mycelien in Flüssigkeit.	Schimmelrasen (Asperg. glaucus, Penicill. glauc.).

## II. Bakteriologische Zersetzung der konz. Lake.

	Nach 2 Tagen.	Nach 10 Tagen.		
		Nach 10 Tagen.	Nach 20 Tagen.	Nach 30 Tagen.
1. Verflüssigung der mit Gelatine versetzten Lake. 83 ccm Lake mit 1,5 g eingeschnittener Gelatine auf Wasserbad bis zur Lösung erwärmt (Auffüllung des Verdunsteten!), beim Abkühlen mit 10 ccm kalter Lake gemischt, ausgegossen und in der feuchten Kammer erstarrt. a) Petrischale mit 4 ccm der Lake-Gelatine. b) Ebenso. c) Glasplatte mit 5 ccm. d) Ebenso. e) Becherglas mit 15 ccm.	Unverändert; mikroskopische Betrachtung der Platten ohne Resultat.	Die schon nach 3—4 Tagen eingetretene Verflüssigung ist in allen 5 Fällen total geworden. Mikroskopisch werden Bakterien (Cocci und Stäbchen) in grosser Zahl nachgewiesen. Auftreten eines abweichenden Geruchs, zumal bei den wässriger gewordenen Platten. In dem Becherglase steht eine mattklare Flüssigkeitschicht über dem voluminösen grauen Sediment, Salzgehalt derselben laut Titrierung = 28 pCt. (1 ccm erfordert 37,2 ccm $\frac{1}{10}$ Silberlösung).		
2. Ähnliche Versuchsanwendung unter Ausschluss der feuchten Kammer. 50 ccm Lake mit 5 g Gelatine (gelöst wie oben); Mischen mit 10 ccm kalter Lake. Verteilt auf 2 Erlenmeyer-Kolben m. Wattepropf. (1. V.) a) Kolben 1 erfährt nach 10 Tagen Zusatz einiger Kräställchen kohlens. Natrons. b) Kolben 2 behält dauernd die ursprüngliche Reaktion.	{ Ohne sichtbare Änderung.	Gallerte ist dünnflüssig geworden.	Verflüssigt.	Inhalt wimmelt von Bakterien (meist Stäbchen, seltener Cocci). Inhalt enthält zahlreiche oidienartige Organismen (s. Text).
3. Wiederholung von Versuch 1. 15 ccm abgesetzter Lake mit 0,75 g Gelatine (5 pCt.) (Becherglas). Feuchte Kammer.	Nach 10 Tagen. Es beginnt eine weiterhin die ganze Masse ergrifffende Verflüssigung. Zersetzungsgeruch. Zahlreiche Bakter. (Stäbch.).			
4. Filtrierte Lake im feuchten Raum. 1 Schälchen mit 15 ccm in der feuchten Kammer. (8. V.)	Nach 14 Tagen sichtbare Trübung. Nach 18 Tagen starke Zersetzung; auf der Oberfläche dichtes graues Bakterienhäutchen (Stäbchen); fremdartiger Geruch. Krystallbildungen. Titrierung ergibt jetzt 19,89 pCt. Chlornatrium (1 ccm erfordert 34 ccm $\frac{1}{10}$ Silberlösung).			
5. Reagenzglas mit 5 ccm ebenso. (6. V.)	Beginnende Trübung nach 14 Tagen; auch alles andere (Bakterienhaut, alkalische Reaktion, Abscheidung kleiner Kräställchen) wie in No. 4.			
6. Unfiltrierte Lake bei luftdichter Aufbewahrung. 80 ccm in halbgefülltem Fläschchen mit Glasstopfen. (6. III.)	Allmähliches Absetzen der suspendierten Teile zu grauem Sediment unter gelblicher trübbleibender Flüssigkeit. Nach einigen Wochen Verschwinden des Lakegeruchs. Weiterhin treten in den Präparaten Bakterien (meist Stäbchen) in zunehmender Zahl auf. Geruch schwach ranzig-muffig.			
7. Wiederholung von No. 6. 50 ccm Lake in dicht schliessendem Stöpselglase. (8. V.)	In den nächsten Wochen Sedimentierung und Geruchs-Abnahme wie vorher. Am 15. VII. ist die trübe Flüssigkeit von einer kolossalen Stäbchen-Vegetation (Cocci seltener) erfüllt. Auf der Oberfläche Penicillium-Rasen. Reaktion: Lakmus schwach rot. Die Stäbchen z. T. mit Bewegung (wackelndes Gleiten). 2 Monate später treten stabförmige Formen zurück, die Präparate sind dicht mit Cocci erfüllt, die auch oberflächlich (wo Penicillium vergangen ist) an den Fetttröpfchen usw. zahlreiche kleine mattschimmernde Kolonien bilden. Geruch schwach „muffig“ (Oktober) ohne fischartiges.			
8. Aussaat der Salzhefe in filtrierte konz. Lake. Impfung eines Erlenmeyer-Kolbens (7,5 ccm weingelbe klare Lake) mit Platinöse einer Reinkultur in salziger Würze, fester Watteverschluss. (15. IV.)	Nach 3 Tagen: Unverändert klare Lösung ohne Bodensatz oder Trübung. Nach 14 Tagen: Schwacher grauweisser, bei Bewegung der Flüssigkeit deutlich hervortretender Bodensatz. Mikrosk. Aussehen: Stark lichtbrechende kuglige Hefezellen mit Sprossungen. Nach 30 Tagen: Der Boden der Kolben hat sich mit einem festhaftenden grauen Anhug belegt. Mikrosk. Aussehen: Zu Krusten oder kuglichen Konglomeraten vereinigte, lang nadelförmige, farblose Krystalle, zwischen denen vereinzelt Hefezellen liegen.			

### III. Plattenkulturen mit alkalisch gemachter Salz-Gelatine (10 pCt. Kochsalz).

(Nachweis der Coccen.)

2,5 ccm der auf das 100fache verdünnten Lake (1 ccm auf 100 ccm dest. Wasser) mit 12,5 ccm Salz-Gelatine gemischt und in dünner Schicht ausgegossen. 4 Platten bzw. Schalen nebst 2 Kontrollplatten (von der gleichen Gelatine vor Mischung mit der Lake) in derselben f. Kammer. (8.—29. V.)

	Nach 10 Tagen.	Nach 20 Tagen.	Nach 30 Tagen.
1. Platte No. 1.		Zahlreiche gelblich-graue sehr kleine porzellanartige Kolonien beginnen in der Gelatine hervorzutreten (Coccen). Zahl über 100, daneben 4 kleine Schimmelrasen.	
2. Platte No. 2.		Von gleichem Aussehen. Kolo-nienzahl ca. 100. 8 Schimmel-kolonien.	
3. Platte No. 3.	Ohne Änderung (Platten ohnesichtbare Vegetation glasig fest).	Von gleichem Aussehen. Kolo-nienzahl ca. 120. 1 Schimmel-mycel.	
4. Petrischale.		Von gleichem Aussehen. Kolo-nienzahl ca. 50. 1 Mycel.	
5. Kontrollplatte.		Nur 4 Schimmelmycelien, sonst unverändert.	Größenzunahme der Mycelien, Abschmelzung der sonst unveränderten Platte.
6. Kontroll-Schale.		Nur 2 kleine Schimmelmycelien.	

### IV. Veränderung der filtrierten Lake in Reagenzgläsern unter Watteverschluss.

Ohne oder mit Zusatz besonderer Nährstoffe.

	Nach 5 Tagen.	Nach 14 Tagen.	Nach 30 Tagen.	Nach 100 Tagen.
1. Weingelbe klare Lake 5 ccm.		Überall leichte Trübung, Schaumbildung und Abscheidung eines mikroskopisch formlosen hellen Salzes. Mikrosk. Aussehen: ungemein kleine rundliche Partikelchen unbestimbarer Natur, daneben einzelne Hefezellen (Salzhefe).	Beträchtliche Zunahme der grauweissen körnigen Abscheidungen, z. T. den Wandungen fest ansitzend (mikrosk. Aussehen: kristallinisch), daneben fortgesetzt Blasen-Auftreten*) (Schaumbildung).	Hinzukommen von Kochsalzwürfeln.
2. Ebenso.	Unverändert.			
3. Desgl.				
4. Desgl.				
5. Ebenso (neues Filtrat) und Zusatz einer kleinen Messerspitze Traubenzucker auf 6 ccm (5.V.)				
6. Wie No. 5.	Unverändert.	Unverändert.	Allmähliche schwache Trübung.	
7. Wie No. 5, doch mit dem gleichen Zusatz von Fleischpepton.				
8. Ohne besonderen Zusatz.				

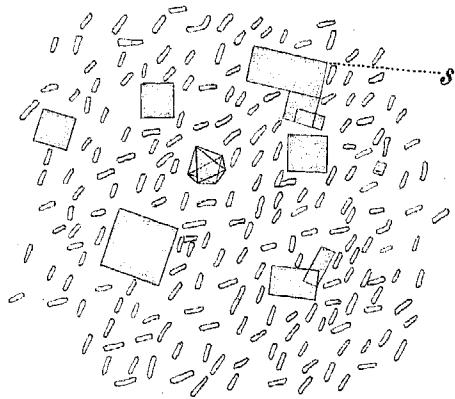
\*) Diese auffällige andauernde Schaumbildung auf den unbewegt stehenden Gefäßen ist mir bislang unerklärlich. Die Lösungen machten den Eindruck gären der Flüssigkeiten; mikroskopisch war in der trüben Masse nichts Sichereres nachzuweisen; Überimpfen einer Spur in Würze ergab Vegetationen der Kugelbakterien. Daraus lassen sich aber kaum so weitgehende Schlüsse ableiten, dass man die Lösungen etwa als in einer „Gärung“ befindlich hinstellt. Die Sache bedarf also noch der Aufklärung.

### V. Bakteriologische Zersetzung als Folge einer Verdünnung.

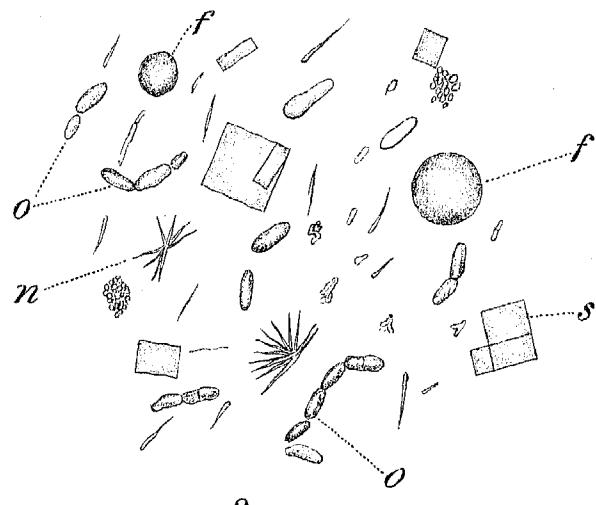
	Nach 3—4 Tagen.	Nach 11 Tagen.	Nach 15 Tagen.	Nach 30 Tagen.
1. Filtrierte Lake mit dem gleichen Vol. Wasser verdünnt (15 ccm in Erlenmeyer-Kolben mit Wattepropf). (20. V.)	Starke Trübung, mikrosk.: massenhafte Stäbchenvegetation. Alkalische Reaktion.	Lebhafte Zersetzung im Fortschreiten (Krystallchen-Abscheidung). Sediment.	—	—
2. Ebenso; gleiche Vol. Lake und Wasser in offenem Reagenzglas (20. V.) wie auch die folgenden gleichzeitigen Versuche.	Trübung (nach 6—7 Tagen) durch starke Bakt.-Vegetation.	Zunahme der Veget. (Bakt.-Sediment).	—	—
3. 1 Vol. Lake + $\frac{1}{2}$ Vol. Wasser.	0	Beginnende Trübung (wie oben).	Zunahme (endgültig Bakt.-Bodensatz).	—
4. 1 Vol. Lake + $\frac{1}{4}$ Vol. Wasser.	0	0	Trübung (wie vorher), Stäbchen und Coccen.	Zunahme (endgültig Bakt.-Bodensatz).
5. 1 Vol. Lake + $\frac{1}{8}$ Vol. Wasser.	0	0	0	Leichte Trübung (Bakt.).

### VI. Verhalten der konz. Lake nach Alkalisierung durch festes kohlens. Natron (wasserfrei).

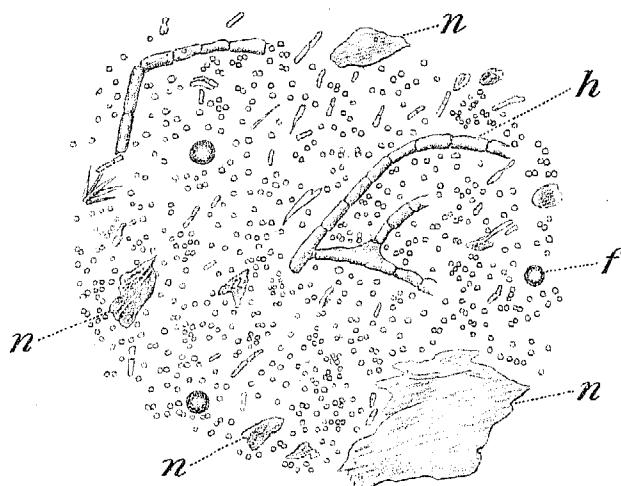
	Nach 10 Tagen.	Nach 15 Tagen.	Nach 30 Tagen.
1. Filtrierte klare Lake nach 2 wöchentlichem Stehen unverändert geblieben und jetzt schwach alkalisch gemacht (Kolben mit Wattepropf). (10. V.)	Unverändert wasserklar (hier wie weiterhin kristallin. Sediment infolge des Alkalizusatzes.)	Ebenso.	Starke Bakterienträubung (bewegl. Stäbchen, vereinzelt Coccen) (gleichzeitig wie auch in No. 4 bis 8 Salzabscheidung infolge von Verdunstung).
2. Unfiltrierte Lake (10 ccm) in Reagenzglas mit Wattepropf, sonst wie oben. (11. V.)	Schwache Geruchsänderung. Mikrosk. Resultat zweifelhaft.	—	—
3. Wiederholung von No. 2. (11. V.)	Wie vorher.	—	—
4. Filtrierte Lake, sonst wie vorher. (11. V.)		Klar.	—
5. Ebenso.		Schwach getrübt (lebhaft bewegl. Stäbchen).	—
6. Ebenso.	Wie vorher.	Schwache Trübung (bewegl. Stäbchen).	—
7. Ebenso.		Klar.	—
8. Ebenso		Klar.	—



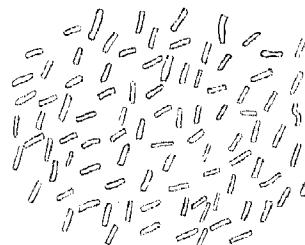
1.



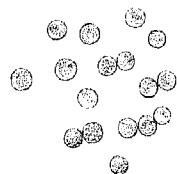
2.



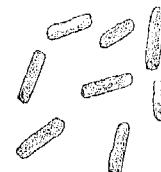
3.



4.



5.



6.

### Tafel-Erklärung.

Fig. 1. Starke Stäbchenvegetation in alkalischer Lake (Erlenmeyer-Kolben mit Watteverschluss). Aus der salzgesättigten Flüssigkeit setzen sich gleichzeitig Kochsalzkristalle ab.

Fig. 2. Präparat aus mit Gelatine versetzter konzentrierter Lake, die langsam verflüssigt wurde (Erlenmeyer-Kolben mit Watteverschluss). Salzkristalle, Gipsnadeln (?), Fettropfen und oidienartige Entwicklungsformen.

Fig. 3. Präparat aus alter Lake mit massenhafter Coccenvegetation (Penicillium-Fäden (h) und Stäbchen); daneben Nadelkonglomerate.

Fig. 4. Präparat aus Peptonlösung mit 25 p.Ct. Salz. Dichte Stäbchen-Vegetation (nach 30 Tagen).

Fig. 5 und 6. Coccen und Stäbchen, erstere aus einer Kultur in süßer Würze, letztere aus Peptonlösung mit 25 p.Ct. Salz, stark vergrössert.

s = Kochsalzkristalle, n = Aggregate von Krystallnadeln, f = Fettropfen.

Fig. 1--4 bei annähernd gleicher Vergrösserung (c. 1000) mit Ocul. 3 und Obj. 7 des P. Altmann'schen Bakterienmikroskops gezeichnet.