

Mikrokalorimeter zur Bestimmung der Wärmeproduktion von Bakterien.

Von
K. v. Körösy.

Mit zwei Abbildungen im Text.

(Mitteilung aus dem physiologischen Institut der Universität Budapest.)

(Der Redaktion zugegangen am 17. Juni 1913.)

Die Bestimmung der Wärmeproduktion von Bakterien ist eine von verschiedenen Gesichtspunkten aus wichtige Aufgabe. Sie bildet erstens ebenso ein zusammenfassendes Maß der Intensität des Stoffwechsels dieser Organismen, wie bei den höheren Tieren, warum wir auch, wenn wir den Einfluß irgend eines Agens auf die Lebensäußerungen der Bakterien untersuchen wollen, am richtigsten die Wärmeproduktion zum Maßstab wählen. Zweitens führen derartige Untersuchungen zu interessanten Ergebnissen bei der vergleichenden Betrachtung des Stoffwechsels, wie dies durch die Arbeiten Rubners¹⁾ gezeigt wurde. Drittens gibt es viele Mikroorganismen, die zur Ausführung der verschiedensten chemischen Vorgänge gewissermaßen eingestellt sind, wofür es genügen mag, die im Kreislaufe des Stickstoffs tätigen Bakterien als Beispiel anzuführen. Es wurde versucht, die Reaktionswärme dieser Vorgänge auf Grund der entsprechenden Reaktionsgleichung zu berechnen.²⁾ Wenn wir aber bedenken, daß diese Gleichungen größtenteils vielmehr auf Grund stöchiometrischer Spekulationen, als auf Grund genauer und eingehender analytischer

¹⁾ M. Rubner, Arch. f. Hygiene, Bd. 48, S. 260 (1904); Bd. 49, S. 355 (1904); Bd. 57, S. 161, 193, 244 (1906).

²⁾ O. Herzog, Diese Zeitschrift, Bd. 37, S. 392 (1903); O. Jensen, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 22, S. 305 (1909); W. Kruse, Allgem. Mikrobiologie. Vogel, Leipzig 1910.

Bestimmungen aufgestellt wurden, so können wir derartigen Berechnungen nur geringen Wert beimessen. Es wurde ja selbst für die Hefe, also für jenen Mikroorganismus, dessen chemisch-analytische Untersuchung ohne Zweifel am meisten vorgeschritten ist, auf dem Wege der direkten Kalorimetrie durch Rubner¹⁾ eine andere Wärmeproduktion festgestellt, als nach der Gleichung zu berechnen ist.

Die Wärmeproduktion der Bakterien wurde zum ersten Male durch Tangl²⁾ auf dem Wege der chemischen Kalorimetrie ermittelt; er zog von der Verbrennungswärme des Nährbodens vor dem Versuche die Verbrennungswärme des Nährbodens + Bakterienkörper nach dem Versuche ab. Rubner³⁾ war der erste, der die Wärmeproduktion der Bakterien neben dieser Methode auch auf dem Wege der physikalischen Kalorimetrie bestimmte. Zur Ausführung der physikalischen oder nach Rubner¹⁾ Biokalorimetrie bei Bakterien sind besonders konstruierte Apparate notwendig; die in der Tierphysiologie gebräuchlichen Kalorimeter sind zur Bestimmung der in langen Zeiträumen sich entwickelnden geringen Wärmemengen nicht geeignet. Die zahlreichen Methoden der physikalischen Kalorimetrie lassen sich am richtigsten nach Lefèvre⁵⁾ (etwas vereinfacht) folgendermaßen gruppieren:

		Auf Grund der	
Direkte Bestimmung	{	latenten Wärme	{ Schmelzwärme Lavoisier, Bunsen Verdampfungswärme
		Erwärmung	{ stehenden Wassers Dulong-Despretz bewegten Wassers oder bewegter Luft Atwater, Lefèvre

¹⁾ M. Rubner, Arch. f. Hyg., Bd. 49, S. 361 und 399 (1904); neuerdings betont aber R. (Sitzber. preuß. Akad., 1912, S. 124), daß die beobachteten und berechneten Werte der Wärmeproduktion der alkoholischen Gärung gut übereinstimmen.

²⁾ F. Tangl, Pflügers Arch. f. d. ges. Phys., Bd. 48, S. 475 (1903).

³⁾ M. Rubner, Arch. f. Hyg., Bd. 48, S. 260 (1904).

⁴⁾ M. Rubner, in Tigerstedts Handb. d. physiol. Method. 1. Bd., 3. Teil, S. 216.

⁵⁾ J. Lefèvre, Chaleur animale et bioénergétique. Masson, Paris 1911, S. 81.

	Mit einem Instrument	Mittels	
Indirekte Bestimmung ¹⁾	einfacher Wandung	Thermometrie thermoelektrischer Methode	Hirn d'Arsonval
			doppelter Wandung

Mit den sogenannten Deperditeuren wird nicht die Wärmemenge (Kalorienzahl) bestimmt, sondern die stationär gewordene Temperaturdifferenz, die zwischen dem Innern des Apparates bzw. dessen äußerer (eventuell doppelter) Wand und der Umgebung auftritt, wenn im Apparate stündlich eine bestimmte Kalorienproduktion stattfindet. Diese Temperaturdifferenz wird entweder abgelesen oder kompensiert, indem in einem zweiten gleichen Instrument z. B. auf elektrischem Wege so viel Wärme produziert wird, daß die Temperaturdifferenz zwischen den beiden Instrumenten = 0 wird.

Die bisher beschriebenen Mikrokalorimeter sind teilweise reine Deperditeure, teilweise mit dem auf Messung der Temperaturerhöhung gegründeten direkten Verfahren kombinierte Deperditeure, mit oder ohne Kompensation. Das Kalorimeter von Bohr und Hasselbalch²⁾ ist ein reiner Deperditeur mit Kompensation. Sie setzen in einen gegen Wärmeverlust isolierten Kasten zwei gleiche Metallbehälter; in das eine kommt die zu untersuchende Wärmequelle (Ei), im anderen läßt sich die elektrische Wärmeproduktion so regulieren, daß die thermoelektrisch gemessene Temperaturdifferenz = 0 sei. Bohr und Hasselbalch konnten die kalorimetrische Bestimmung erst nach Eintritt des stationären Zustandes ausführen; je eine solche Bestimmung beanspruchte 1½ bis 3 Stunden. Obgleich die angewandte Kompensation die Genauigkeit des Apparates wesentlich erhöht, ist er zur Bestimmung der Wärmeproduktion der Bakterien nicht geeignet, weil es hierbei eben darauf an-

¹⁾ «Appareils déperditeurs», d'Arsonvals Benennung, s. Lefèvre, S. 121, l. c.

²⁾ Chr. Bohr u. Hasselbalch, Skandin. Arch. f. Physiol., Bd. 14, S. 398 (1903).

kommt eine Wärmeproduktion wechselnder Intensität zu bestimmen.

Rubners¹⁾ Instrument ist ein mit direkter Kalorimetrie kombinierter Deperditeur ohne Kompensation. Er gebrauchte zur Bestimmung der Wärmeproduktion bei der alkoholischen Gärung, dem Sauerwerden der Milch und anderen bakteriellen Prozessen, Dewar-Flaschen nach vorheriger Bestimmung ihrer Wärmeverlustkonstante (Eichungszahl), d. h. der Größe jener stündlichen Kalorienproduktion, bei welcher nach Eintritt des stationären Zustandes die Temperaturdifferenz zwischen dem Innern des Apparates und der Umgebung 1° beträgt. Von der Konstanz dieses Wertes überzeugte er sich durch besondere Kalibrierungen, indem er die elektrische Wärmeproduktion zwischen stündlichen 21—112 cal.²⁾ variierte. Vielleicht würde sich diese Größe bei verschiedener stündlicher Kalorienproduktion veränderlich zeigen, wenn die letztere in noch weiteren Grenzen variiert würde. Rubner erhielt die stündlich (zweistündlich) sich entwickelnde Wärmemenge in zwei Gliedern: Erstens berechnete er mit Hilfe der erwähnten Konstante die stündlich entwickelte und an die Umgebung verlorene Wärmemenge. Hierzu addierte er dann als zweites Glied die entwickelte, aber noch nicht verlorene Wärmemenge, die er durch Multiplikation der Temperaturerhöhung der Flüssigkeit mit der Wärmekapazität der Flüssigkeit + des Instrumentes berechnete: die genaue Ermittlung letzterer Größe war mit ziemlichen Schwierigkeiten verbunden.

Bei kurz dauernden Versuchen repräsentiert das zweite Glied den größeren Teil der produzierten Wärme; dann ist das Verfahren eigentlich eine korrigierte direkte Kalorimetrie und als solche genauer. Die Bedeutung des ersten Gliedes wächst aber mit zunehmender Versuchszeit und das Instrument wird zum reinen Deperditeur. Demzufolge wird der Versuchsfehler größer, wenn die intensive Wärmeproduktion erst längere Zeit nach Beginn des Versuches einsetzt. So ergibt sich auch der

¹⁾ M. Rubner, Arch. f. Hyg., Bd. 48, S. 260 (1904); Bd. 49, S. 355 (1904); Tigerstedts Handb. d. physiol. Method., 1. Bd., 3. Teil, S. 218.

²⁾ Kleine Kalorien.

Fall, daß die Temperatur abnimmt, obgleich die Wärmeproduktion, zwar mit geringerer Intensität noch andauert. In diesen Fällen teilt das Instrument alle Fehler der Deperditeure: der eigentlich beobachtete Faktor, der Temperaturunterschied, ist klein, wodurch kleine lokale Temperaturdifferenzen und geringe Änderungen der Umgebungstemperatur auf das Resultat der Berechnung einen unverhältnismäßig großen Einfluß ausüben. Mit Rubners Mikrokalorimeter arbeiteten außer ihm auch andere Forscher.¹⁾

Hill²⁾ modifizierte dieses Verfahren, indem er es in eine Differenzmethode umgestaltend von der Konstanz der Umgebungstemperatur unabhängig machte. Im wesentlichen erhält auch er, wie Rubner, die entwickelte Wärme in zwei Gliedern, er addiert aber zur beobachteten Temperaturerhöhung ein dem Wärmeverlust entsprechendes Korrektionsglied und multipliziert die so korrigierte Temperaturerhöhung mit der Wärmekapazität. Die Beobachtung des Temperaturunterschiedes der zum Versuche dienenden Dewar-Flasche gegenüber einer Kontrollflasche geschieht auf thermoelektrischem Wege. Das Korrektionsglied läßt sich auf Grund der mathematischen Behandlung der Frage entweder dadurch bestimmen, daß die Umgebungstemperatur konstant erhalten wird, wie dies durch Rubner geschah, oder durch eine derartige Wahl der beiden Flaschen, daß sie einen gleichen Abkühlungskoeffizienten (conductivity constant) besitzen. Dieser Koeffizient drückt die stündliche Temperaturabnahme in dem Falle aus, wenn der Temperaturunterschied zwischen der Flüssigkeit und der Umgebung 1° beträgt. Der Koeffizient steht mit jenem Rubners in einem einfachen Verhältnis; Hill überzeugte sich von seiner Konstanz auch noch durch besondere Abkühlungsversuche. Die Gleichsetzung des Abkühlungskoeffizienten gelingt Hill durch den Kunstgriff, daß er sie mit verschiedenen Flüssigkeitsmengen füllt. Die bei Besprechung von

¹⁾ L. Giuffré u. L. B. Simoncini, Bolletino della Soc. siciliana d'Igiene Nuova, ser. 2 (1899), Sonderabdr.; ähnlich ist das Verfahren von Meyerhof, Biochem. Zeitschr., Bd. 35, S. 246 (1911); Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 149, S. 250 (1913).

²⁾ A. V. Hill, Journ. of physiol., Bd. 43, S. 261 (1911).

Rubners Kalorimeter erwähnten Umstände beeinflussen aber auch Hills Instrument in ungünstiger Weise, wie dies Hill¹⁾ neuerlich selbst erwähnt. Hill dehnte die elektrischen Probebestimmungen nur auf 1½ bzw. 9—10 Stunden aus, wie denn auch die Mehrzahl seiner mitgeteilten Versuche nur 8 Stunden dauerten. In neun Stunden ergibt aber das dem Deperditeurverfahren entsprechende Korrektionsglied schon 30% der gesamten Temperaturerhöhung bzw. Wärmeproduktion. Zur Lösung der eingangs an dritter Stelle erwähnten Probleme sind wir aber unbedingt auf mehrere Tage dauernde Versuche angewiesen.

Als ich ein zur Bestimmung der Wärmeproduktion von Bakterien geeignetes Kalorimeter zu finden trachtete, dachte ich von Anfang an die sich auf die latente Wärme gründenden Methoden. Die Vorteile dieser Methoden sind die folgenden: 1. Wie bei allen direkten Methoden wird am Instrumente direkt die Anzahl der entwickelten Kalorien abgelesen, und nicht eine der stündlichen Kalorienproduktion proportionelle Größe (es ist kein Deperditeur). 2. Die Temperatur bleibt während des Versuches unverändert, was vom physiologischen Standpunkte aus bedeutsam ist, welche Bedingung weder bei den Deperditeuren, noch bei der sonst direkten Methode von Dulong-Despretz erfüllt wird. 3. Das Verfahren ist sehr empfindlich, also zur Messung einer schwachen, protrahierten Wärmeproduktion geeignet. Des Eiskalorimeters konnte ich mich nicht bedienen, weil es nur bei 0° arbeitet. Ich dachte aber daran, daß es bei Benutzung einer geeigneten Substanz (z. B. Kresol) möglich wäre, ein sich auf Benützung der Schmelzwärme gründendes Mikrokalorimeter zu konstruieren. Da aber schon das genaue Arbeiten mit dem Eiskalorimeter die Innehaltung höchst peinlicher Vorsichtsmaßregeln erfordert,²⁾ hielt ich es für praktischer, die Verwertung der Verdampfungswärme zu versuchen. Ein

¹⁾ l. c., Bd. 44, S. 478 (1912).

²⁾ Longuinine et Schikarew, *Méthod. de calorimétrie* Genève. Georg, 1908.

solches Instrument wurde im Prinzip schon von d'Arsonval¹⁾ angegeben: ausgehend von seiner kurzen Beschreibung gelang es mir nach vielen langwierigen Versuchen ein entsprechendes Instrument zu konstruieren.

Das Prinzip des Verfahrens besteht darin, daß die Wärmequelle in ein doppelwandiges Gefäß, dieses Gefäß mit einer wärmeisolierenden Schicht (Luft) umgeben in ein auf konstanter Temperatur gehaltenes Wasserbad gesetzt wird. Das doppelwandige Glasgefäß kommuniziert durch ein Verbindungsstück mit einem graduierten Glasrohre, welches ohne Isolierung direkt in dem Wasser des Wasserbades steht. Das ganze System: Binnenraum zwischen den doppelten Wänden, Verbindungsstück, graduiertes Rohr wird evakuiert und mit einer Flüssigkeit, z. B. Äther, gefüllt. Wenn nun im Innern des doppelwandigen Gefäßes Wärme produziert wird, so destilliert eine entsprechende Äthermenge in das graduierte Rohr, wird dort niedergeschlagen, währenddessen seine latente Wärme von der großen Wassermenge des Wasserbades aufgenommen wird. Hierdurch wird die Temperatur der letzteren um etwas erhöht, aber erstens bei Benützung eines genug großen Wasserbades in einem minimalen, überhaupt nicht in Rechnung kommenden Maße, zweitens aber verhindert der verwendete Thermoregulator, daß sich die Temperatur des Wasserbades in merkbarem Maße über die eingestellte Temperatur erhebe.

Wir müssen uns den Vorgang des näheren folgendermaßen vorstellen: Durch die entstehende Wärme wird, wenn die Wärmequelle ganz von flüssigem Äther umgeben ist, der Äther etwas erwärmt, wodurch derselbe teilweise in Dampf verwandelt wird, die Spannung des Ätherdampfes nimmt zu, ein Teil desselben gerät infolgedessen vom Orte höherer nach dem Orte niedrigerer Spannung, in das äußere graduierte Rohr, wird dort abgekühlt und schlägt sich nieder. Wenn die Wärmequelle von Ätherdampf umgeben wäre, so wäre dessen geringfügige Erwärmung der primäre Vorgang und als Ersatz für den

¹⁾ A. d'Arsonval, Journ. de l'anat. et de physiol., Bd. 22, S. 146, (1886): d'Arsonvals schematische Abbildung s. Lefèvre, l. c., S. 84: M. Rubner in Tigerstedts Handb. d. physiol. Meth., 1. Bd., 3. Teil, S. 192.

überdestillierten Ätherdampf würde sich der flüssige Äther teilweise in Dampf verwandeln.

Äther eignet sich als verdampfende Flüssigkeit, weil: seine Verdampfungswärme gering ist (90 Kal.), also verhältnismäßig große Mengen übergehen, seine spezifische Wärme gering ist (0,55), er also leicht erwärmt wird, und schließlich sein spezifisches Volumen groß ist (das spezifische Gewicht klein: 0,7). Hieraus ergeben sich für 1000 cal. ca. 16 ccm Äther:¹⁾ da sich $\frac{1}{10}$ ccm Äther, aber auch weniger, leicht ablesen läßt, so kann auf diese Weise eine stündliche Wärmeentwicklung von 6 cal. sicher bestimmt werden. Der Äther zersetzt sich aber anderseits leicht und wird auf diese Weise durch fremde Substanzen verunreinigt. Zu meinen Versuchen gebrauchte ich Kahlbaum-schen Äther,²⁾ nach Lassar-Cohn³⁾ entwässert. Vielleicht ließe sich die Empfindlichkeit des Instrumentes noch steigern, wenn man an Stelle des Äthers eine diesbezüglich besser entsprechende Substanz wählen könnte.

Eine wesentliche Bedingung ist, wie dies schon d'Arsonval⁴⁾ erwähnte, daß in dem mit Äther gefüllten System außer flüssigem und dampfförmigem Äther keine andere Substanz vorhanden sei, namentlich nicht Luft oder ein anderes Gas, weil dann durch die entstehende Wärme teilweise dieses Gas erwärmt und hierdurch ein Teil desselben in das graduierte Rohr gelangen, sich dort abkühlen und, seine Wärme ohne niedergeschlagen zu werden dem Wasserbade übergebend, in das doppelwandige Gefäß zurückdestillieren würde. Das Resultat wäre also, daß der Wärmetransport teilweise durch die Erwärmung und Abkühlung dieses Gases und nicht durch die Destillation und das Niederschlagen des Äthers vermittelt würde.

Da in dem nach dem erwähnten Originalschema gefertigten Instrumente nur ein geringer Bruchteil der berechneten Äthermenge überdestillierte, mußten an dem Instrumente die ver-

¹⁾ Über diesen Wert s. S. 397.

²⁾ «Über Natrium destilliert.»

³⁾ Lassar-Cohn, Arbeitsmeth. f. organ.-chem. Laborat., IV. Aufl., Allgemein. Teil. Voss., Hamburg 1906, S. 267.

⁴⁾ d'Arsonval: a. a. O.

schiedensten Modifikationen angebracht werden, bis ich endlich entsprechende Werte erhielt. Nebenstehende Figur zeigt jene Gestalt des Kalorimeters im Querschnitt, welche sich als die beste erwies. Die beiden Wände der äußeren evakuierten Hülle

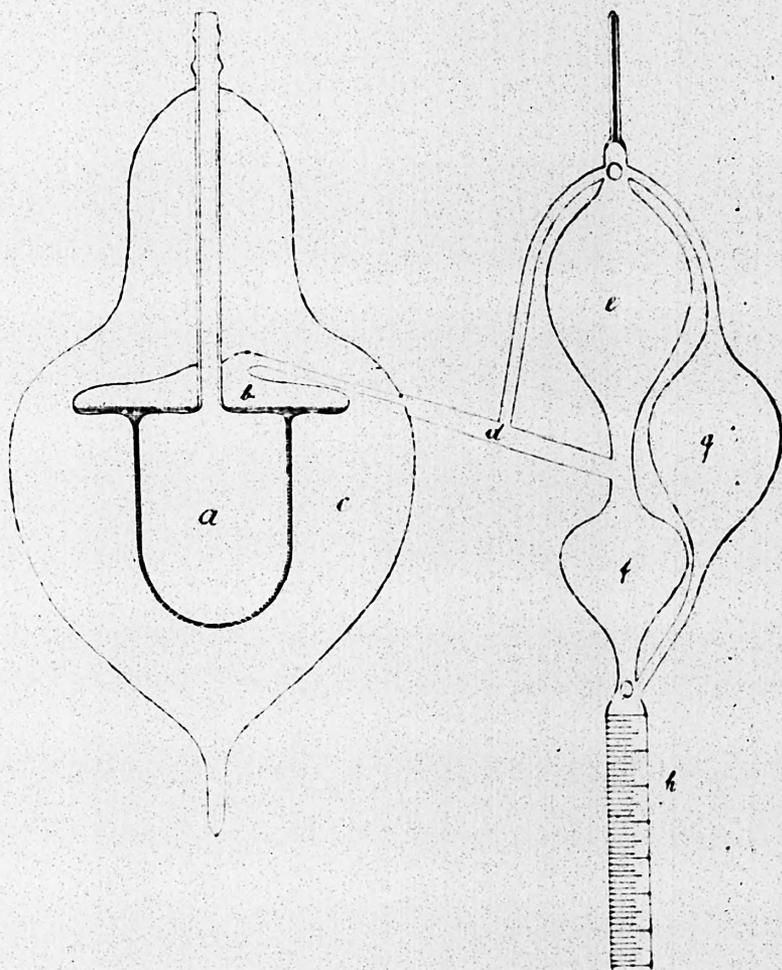


Fig. 1.

(c) sind von innen versilbert. Die Kugeln e, f, g sind aus sehr dünnem Glase; g-Kugeln gibt es am Instrumente drei, außer der in der Figur dargestellt je eine um 90° nach vorne, bzw. rückwärts. Die Füllung mit Äther wurde sehr sorgfältig vorgenommen, damit keine Luft im Apparate zurückbleibt; nach Evakuierung wurde Äther eingesogen, dieser entleert und diese Manipulation öfter wiederholt.

Die Versuche wurden in einem großen doppelwandigen Thermostat-Wasserbad bei 35° ausgeführt. Der Kubikinhalt des ganzen Thermostaten betrug etwa 850 l, jener des inneren

Wasserbades 350 l. Zur Konstanthaltung der Temperatur bewährte sich der von Bogdándy beschriebene¹⁾ Toluol-Thermoregulator sehr gut. Die Schwankung der Temperatur betrug bei 2—10 Stunden dauernden Versuchen weniger als 0,001°; selbst in längeren Zeiträumen blieb die Temperatur bis zu ca. 0,01° konstant. Der Zwischenraum zwischen den beiden Wänden des Thermostaten war auch mit Wasser gefüllt; diese Wassermenge kommunizierte mittels einer kleinen Öffnung mit dem Wasser des inneren Wasserbades. Der Thermoregulator wurde in das äußere Wasserbad gesetzt. Die Wassermengen des äußeren und inneren Wasserbades wurden durch ein elektrisch getriebenes Rührwerk ständig gerührt. Das Rühren, wodurch lokale Temperaturunterschiede vermieden werden, schien wichtiger als die vollständig genaue Gleichhaltung der Temperatur des ganzen Systems. Zur Ablesung der Skala des graduierten Rohres (h) unter Wasser diente ein rechtwinklig gebogenes Metallrohr; in dessen oberes Ende wurde ein Fernrohr, an die Stelle der rechtwinkligen Knickung ein Totalreflexionsprisma und an das Ende des wagerechten Teiles eine Glasplatte gesetzt. Auf dieselbe Metallröhre wurde eine kleine elektrische Lampe derart befestigt, daß die graduierte Glasröhre (h) zwischen sie und das Ende des wagerechten Teiles der Metallröhre gelangte.

Für die Vorversuche mußten mehrere Instrumente gefertigt werden, bis ich zur definitiven Form gelangte. Die Momente, auf welche ich hierbei achtete, waren die folgenden: die Menge des verwendeten Äthers, das Niveau, bis zu welchem die Wärmequelle von flüssigem und von welchem ab sie von dampfartigem Äther umgeben war, die Dicke der Äther enthaltenden Hülle, die Größe der freien Verdampfungsoberfläche des Äthers, die Menge der zu erwärmenden Flüssigkeit, der Verschuß der oberen Öffnung des inneren Raumes, die Dicke des gebrauchten Glases, der Ausgangspunkt und die Gestalt der Verbindungsröhre, die Größe der zur Abkühlung des überdestillierten Äthers dienenden Oberfläche und schließlich die Art der den direkten Wärmeverlust des Äthers ver-

¹⁾ St. v. Bogdándy, Zeitschr. f. Biol. Techn. u. Meth., Bd. 3, S. 151 (1913).

hindernden Isolierungsschicht (Luft, Vakuum, Silberspiegel). Den Einfluß einiger dieser Faktoren kann ich zahlenmäßig illustrieren; die entsprechenden Versuche wurden ebenso ausgeführt, wie die Kalibrierung der definitiven Instrumente. Den mitgeteilten Zahlen darf keine übergroße Bedeutung zugemessen werden, da, wie wir sehen werden, die relative Wirkung desselben verbessernden Faktors verschieden ist, einerseits je nachdem ob andere verbessernde Faktoren gleichzeitig mit angebracht sind oder nicht, andererseits je nach der größeren oder kleineren Geschwindigkeit der Wärmeproduktion (stündliche Kalorienproduktion = cal./Stunde).

Die Wärmequelle war im Instrumente Nr. II (definitiver Typus) nur von flüssigem, in dem sonst vollkommen ähnlichen Instrumente Nr. III nur von dampfartigem Äther umgeben.¹⁾ Die folgende Tabelle enthält die Resultate der Versuche: die letzten Spalten geben den Ertrag des Instrumentes Nr. II an, jenen des Nr. III. = 100 gesetzt:

Nr. des Instrumentes	ccm Äther pro 1000 cal.		Dass. in Verhältniszahlen	
	8 cal./Stunde	143 cal./Stunde	8 cal./Stunde	143 cal./Stunde
III.	7,3	4,8	100	100
II.	10,5	14,4	144	300

Die Umhüllung der Wärmequelle mit flüssigem Äther gibt also besonders bei schneller Kalorienproduktion ein wesentlich besseres Resultat, als die mit dampfartigem.

Weitere Vergleiche wurden ausgeführt mit dem Instrument Nr. VIII (definitiver Typus) und mit Nr. VII, welches sich vom vorigen nur durch das Fehlen einer besonderen Abkühlungsfläche unterschied; das Seitenrohr d ging direkt in das senkrechte graduierte Rohr h über. Die Wärmeisolierung geschah in beiden Instrumenten erstens mit Luft ohne Versilberung, zweitens mit Vakuum ohne Versilberung, drittens mit Vakuum und Versilberung; die Wärmeproduktion war immer 141—143 cal./Stunde. Die Art der Wärmeisolierung war bei dem In-

¹⁾ In diesem Instrumente war zwischen den zwei unteren Wänden des mit Äther gefüllten Gefäßes (b) ein großer Abstand; der Äther lag am Boden und erreichte nicht die Wand der inneren Höhlung (a).

strument Nr. VII sozusagen wirkungslos, indem pro 1000 cal. der Reihe nach 2,6; 3,1; 2,4 ccm Äther erhalten wurden. Den Einfluß der einzelnen Faktoren bei dem Instrument Nr. VIII zeigt die folgende Tabelle:

	ccm Äther pro 1000 cal.	Dass. in Verhältniszahlen
Luft	11,6	100
Vakuum	11,7	101
Versilberung . . .	14,5	125

Die größte Wirkung übte also die Größe der Abkühlungsfläche aus, indem die Werte des Instrumentes Nr. VIII durchschnittlich 470% von jenen des Instrumentes Nr. VII ausmachen. Die Vakuumumhüllung gibt kaum bessere Werte als die Luft, die Versilberung gibt aber schon eine in Betracht kommende Verbesserung.¹⁾

Bei der elektrischen Kalibrierung der Instrumente wurde die innere Höhlung (a) mit 96%igem Alkohol gefüllt und die obere Öffnung neben den Zuleitungsdrähten gut verschlossen, um das Verdampfen des Alkohols zu verhindern. Als Wärmequelle diente eine Konstantanspule bekannten Widerstandes. Das in Zimmertemperatur gehaltene Instrument mußte vor jedem Kalibrierungsversuche erwärmt werden. Zu diesem Zwecke schickte ich durch die Spule solange einen elektrischen Strom, bis der Äther in der Röhre h erschien. Der eigentliche Versuch begann einige Stunden nachher. Bei den mit stärkerer Kalorienproduktion ausgeführten Versuchen hört das Überdestillieren des Äthers nicht im Augenblicke der Einstellung der Wärmeproduktion auf, sondern eventuell nur 1—2 Stunden später.

Die gefundenen Werte, auch jene der erwähnten Vergleichsversuche, mußten korrigiert werden, weil der Äther in dem sich selbst überlassenen Instrument ständig von außen nach innen zurückdestillierte, bei dem Instrument Nr. II 0,89, bei Nr. VIII 0,49 ccm pro 100000 Sk. Dies wird hauptsächlich

¹⁾ Die Wirkung der Versilberung auf die Wärmeisolierung der Dewar-Flaschen wurde schon durch Hill gewürdigt. Journ. of physiol. Bd. 43, S. 261 (1911).

lich durch die Wärmeleitung der Zuleitungsdrähte verursacht: das Zurückdestillieren des Äthers nimmt wesentlich ab, wenn man die Drähte in das Wasserbad biegt. Die Drähte leiten die Wärme des Alkohols der kühleren Zimmerluft¹⁾ zu, und als Ersatz dieser Wärmemenge bringt der Äther durch Zurückdestillieren ebensoviel aus dem Wärmeinhalte des Wasserbades. Der Äther destillierte aber auch nach Ausschaltung dieses Momentes zurück, und zwar bei dem Instrument Nr. II um 0,16, bei Nr. VIII um 0,25 ccm pro 100000 Sk., wofür es schwer ist eine Erklärung zu finden. Es wäre denkbar, daß der Äther von der kleineren Oberfläche im Rohre h nach der größeren in b destilliert. Um dies zu untersuchen, ließ ich beistehendes Instrument verfertigen, füllte dasselbe auf die

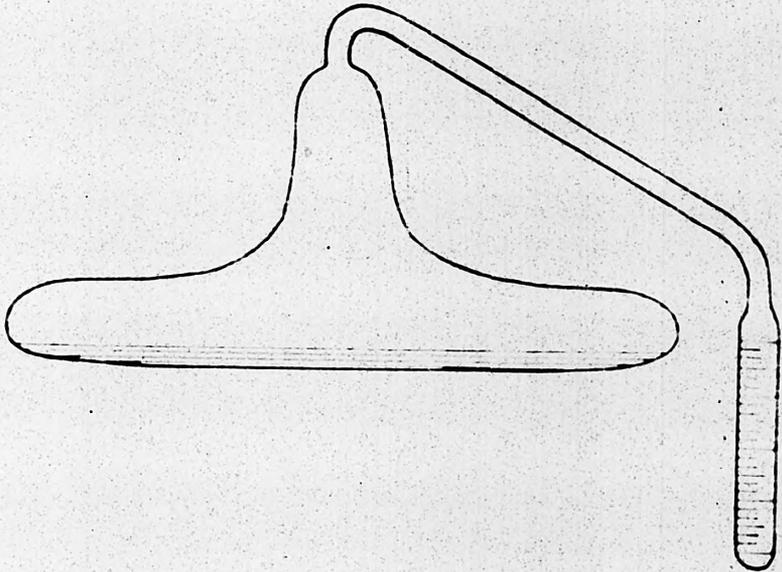


Fig. 2.

angegebene Weise mit Äther und setzte es in das Wasserbad neben das und parallel zu dem Instrument Nr. II, dessen Drähte in das Wasserbad gebogen wurden. Nach 432000 Sk. stand der Äther in diesem Probeinstrumente unverändert, während im Instrument Nr. II im Verlaufe dieser Zeit 0,7 ccm Äther zurückdestillierten. Der erwähnte Umstand ist also keine Erklärung für das Zurückdestillieren. Gleichzeitig beweist dieser Versuch auch, daß dieses Phänomen nicht durch

¹⁾ Die Temperatur des Souterrainraumes schwankte um 23° herum.

eine lokale Temperaturdifferenz zwischen den verschiedenen Teilen des Instrumentes verursacht war; von dem Nichtvorhandensein eines solchen Unterschiedes überzeugte ich mich übrigens auch mit Hilfe eines in $\frac{1}{100}^{\circ}$ geteilten Beckmannschen Thermometers. Es ist möglich, daß die Größe des Zurückdestillierens einerseits von der Menge des außen in h befindlichen Äthers abhängt, anderseits davon, ob die Wärmequelle von flüssigem oder von dampfartigem Äther umgeben ist.

Die Intensität des zur Erwärmung dienenden elektrischen Stromes wurde durch ein Ampèremeter von Siemens und Halske gemessen, für welches ich eine besondere Shuntserie verfertigen ließ, einem maximalen Ausschlage (150 Skalenteile) von 15,30 und 75 Milliampère entsprechend. Die produzierte cal.-Zahl berechnete ich nach folgender Gleichung:

$$0,2389 \cdot ri^2t,$$

wobei r = Widerstand (Ohm), i = Intensität (Ampère), t = Zeit (Sk.). Die Ergebnisse der Kalibrierungen sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Instrument Nr. II		Instrument Nr. VIII	
cal./Stunde	ccm Äther pro 1000 cal.	cal./Stunde	ccm Äther pro 1000 cal.
8,0	10,5	8,2	12,9
15,5	10,6	—	—
31,4	12,7	31,3	13,3
63,4	13,6	63,4	14,1
143,3	14,40, 14,47	143,2	14,5
570,6	14,8	570,3	15,1

Wie ersichtlich, nimmt also die pro 1000 cal. überdestillierende Äthermenge bei stärkerer Kalorienproduktion zu, aber nur auf das 1,4 bzw. 1,2fache des kleinsten Wertes, während dessen die stündliche Kalorienproduktion das 71fache des kleinsten Wertes erreicht. Die Bestimmung dessen, inwieweit das maximale Überdestillieren des Äthers dem theoretischen Werte entspricht, stößt auf Schwierigkeiten, da die Verdampfungswärme des Äthers nicht genau genug bestimmt ist.

Pro 1000 cal. müßten¹⁾ auf Grund des maximalen Wertes (Andrews) 15,9, auf Grund des minimalen Wertes (Ramsay-Young) 17,0 ccm Äther überdestillieren, das spezifische Gewicht des Äthers bei 35° zu 0,696 genommen.²⁾

Der beschriebene Kalorimeter besitzt außer den erwähnten Vorteilen noch denjenigen, daß er bei verschiedenen Temperaturen brauchbar ist.³⁾ Der flüssige Äther bleibt im geschlossenen System des Instrumentes bei jeder Temperatur in Gleichgewicht mit dem darüber befindlichen Ätherdampfe entsprechender Spannung; diese Spannung nimmt bei Wärmeproduktion im Instrumente zu, und der Äther gelangt nach dem Orte geringerer Spannung, nach außen. Um mich zu überzeugen, ob die Brauchbarkeit des Instrumentes bei verschiedener Temperatur auch in der Praxis zutrifft, führte ich mit Instrument Nr. II⁴⁾ einige Versuche bei 26,3 und 34,9° parallel aus. Das Ergebnis war, daß, als bei 34,9° pro 1000 cal. 14,4 ccm überdestillierten, mit einem weniger guten Ampèremeter gemessen ca. 140 cal./Stunde entsprechend, bei 26,3° nur 13,2 ccm Äther überdestillierten. Kleinere Unterschiede müssen wir selbstverständlich bei Kalibrierungen bei verschiedener Temperatur schon deswegen erwarten, weil die Verdampfungswärme und das spezifische Gewicht des Äthers sich mit der Temperatur etwas ändern. Durch die Brauchbarkeit innerhalb weiter Temperaturgrenzen wird das Instrument vielleicht bei manchen Untersuchungen physikalisch-chemischer Natur vor dem Bunsenschen Eiskalorimeter mit Vorteil gebraucht werden können.

Die sich auf die Benützung der latenten Wärme gründenden Kalorimeter müßten eigentlich für physiologische Unter-

¹⁾ Landolt Börnstein, Physik. chem. Tab., III. Aufl., Springer. Berlin, 1905, S. 475.

²⁾ F. W. Clark, A table of specific gravity. Macmillan 1888, (Smithsonian Inst.), S. 197.

³⁾ Lefèvre (l. c., S. 153) denkt offenbar an das von d'Arsonval anderwärtig beschriebene Destillationskalorimeter (Compt. rend. Soc. Biol., 1888, S. 404), wenn er sagt, daß diese Instrumente nur bei der Verdampfungstemperatur brauchbar sind.

⁴⁾ Diese und die folgenden Versuche wurden in einem Thermostatwasserbade von ca. 50 l Rauminhalt ausgeführt.

suchungen den Vorteil besitzen, daß das Versuchsobjekt während des Versuches auf vollständig gleicher Temperatur bleibt. Dies untersuchte ich, indem ich in die Höhlung a bei Instrument Nr. II ein Thermometer brachte. Die Temperatur stieg bei 5—17 cal./Stunde nur um 0,1—0,2°, bei 50 cal./Stunde um 0,9°. Bei Versuchen mit Bakterien kommt kaum eine stärkere Wärme-
produktion vor, und von solchen geringen Temperatursteigerungen können wir getrost absehen. Die Temperatur der Innenflüssigkeit kann aber bei starker Wärme-
produktion bedeutend zunehmen, z. B. bei 400 cal./Stunde um mehr als 7°.

Der Abfall der Temperaturerhöhung erfolgt anfangs nach Sistierung der Wärme-
produktion selbstverständlich schnell, in der ersten Stunde gleichen sich ungefähr 50—70% des Temperaturunterschiedes aus: der Ausgleich geschieht später langsamer, so daß der ganze Abfall eines Temperaturunterschiedes von 7,2° etwa 10 Stunden beansprucht. Das ist der Grund, warum bei stärkerer Wärme-
produktion, wie erwähnt, das Überdestillieren des Äthers nicht gleichzeitig mit der Sistierung der Wärme-
produktion aufhört. Dies bedeutet bei Versuchen mit Bakterien, daß die am Kalorimeter abgelesene Wärme-
entwicklung protrahierter erscheint, als in der Wirklichkeit; in der Gesamtzahl der produzierten Kalorien bedeutet dies selbstverständlich keinen Fehler, ja selbst die geringe zeitliche Verschiebung könnte durch entsprechende Berechnungen korrigiert werden.

Über die Ergebnisse der mit dem hier beschriebenen Kalorimeter ausgeführten Versuche über die Wärme-
produktion der Bakterien beabsichtige ich bei anderer Gelegenheit zu berichten. Diesmal will ich nur zur Illustration dessen, daß das Instrument zu derartigen Untersuchungen geeignet ist, einige Orientierungsversuche mitteilen, aus welchen auch das Problem zu ersehen ist, dessen Lösung ich von diesen Versuchen eigentlich erwarte.

Auf Grund der Reaktionsgleichungen kann es nicht entschieden werden, ob sich unter den vielartigen Bakterien nicht auch solche finden, deren Stoffwechsel endothermisch ist. Tat-

sächlich erwiesen sich alle mit dem beschriebenen Kalorimeter bisher untersuchten bakteriellen Prozesse sämtlich als exotherm.¹⁾ Meine zunächst zu lösende Aufgabe wird also sein, zu untersuchen, unter welchen Umständen ein endothermischer Teilprozeß, wie z. B. die Denitrifikation, welcher aber durch die damit verbundene Oxydation der als Energiequelle dienenden organischen Verbindungen im Endresultate zu einem exothermischen Prozesse wird, mit der verhältnismäßig geringsten Wärmeproduktion abläuft. Einstweilen untersuchte ich, ob die Denitrifikation in einer 1%igen KNO_3 -Lösung bei Gegenwart von relativ viel oder wenig organischer Substanz mit verhältnismäßig geringerer Wärmeproduktion einhergeht. Die Versuche wurden mit einer im Sommer 1911 in Beijerincks Laboratorium zu Delft isolierten *Bact. Stutzeri*-Art ausgeführt. Als organische Nahrung dienten Traubenzuckerlösungen verschiedener Konzentration: zu Ende des Versuches war alles Nitrat und Nitrit verschwunden.

Die Resultate waren die folgenden:

Zucker %	Pro 1 g zersetztes KNO_3 entwickelte (größe) Cal.
1,0	1,31
2,0	1,46
5,0	1,49

Aus diesen Versuchen erhellt, daß, wenn den Bakterien mehr Zucker zur Verfügung steht, dieselben zur Zersetzung der gleichen Nitratmenge eine, zwar nicht bedeutend größere Wärmemenge produzieren.

Zusammenfassung: Es wird ein auf die Verwertung der Verdampfungswärme des Äthers gegründetes, für die Bestimmung der Wärmeentwicklung von Bakterien geeignetes Mikrokalorimeter beschrieben. An demselben wird direkt die ent-

¹⁾ Falls es gelingen würde, einen Mikroorganismus zu finden, dessen Stoffwechsel tatsächlich endothermisch ist, müßte die Brauchbarkeit des Kalorimeters für derartige Vorgänge durch besondere Versuche bewiesen werden.

wickelte Anzahl von Kalorien, und nicht die Geschwindigkeit der Wärmeentwicklung abgelesen; die für dieselbe Anzahl entwickelter Kalorien überdestillierende Athermenge ist von der Geschwindigkeit der Wärmeentwicklung nahezu unabhängig. Das Instrument ist sehr empfindlich und erlaubt bei verschiedener und während des Versuches sich nur schwach ändernder Temperatur zu arbeiten.

