

Über die Wachstumsgeschwindigkeit der Milchsäurebakterien bei verschiedenen H-Konzentrationen.

Von

Olof Svanberg.

Mit 4 Abbildungen im Text.

(Aus dem biochemischen Laboratorium der Universität Stockholm.)
(Der Redaktion zugegangen am 25. August 1919.)

Inhaltsübersicht:

A. Einleitung S. 120. — B. Methodisches S. 122. — C. Versuche S. 124. I. Streptococcus lactis (Bact. lactis acidi) S. 124. II. Bacterium casei (Laktobazillen der Milch) S. 133. III. Bacterium Delbrücki (Laktobazillen der Brennerei) S. 140. — Zusammenfassung S. 143.

A. Einleitung.

Während die Temperaturbedingungen und die Ernährungsverhältnisse der Bakterien und Hefen in bezug auf Kohlen- und Stickstoffquellen, Sauerstoffbedürfnis usw. in praktischer Hinsicht für die meisten Arten und Stämme ziemlich genau ermittelt worden sind und im allgemeinen als bekannt gelten dürfen, sind wir über die Aciditätsbedingungen selbst der in enzymchemischer Hinsicht interessantesten Mikroorganismen noch ziemlich schlecht orientiert. Die pH-Bedingungen der einzelnen Enzyme bzw. Enzymwirkungen sind dagegen während des letzten Jahrzehnts — seit den zuerst publizierten Arbeiten Sörensens auf diesem Gebiet der Enzymforschung — ein Gegenstand für eifriges Arbeiten gewesen.

Gerade um ein erfolgreiches Studium der Enzymwirkungen bzw. Anpassungserscheinungen bei lebenden Mikroorganismen zu ermöglichen, scheint es aber sehr wünschenswert, die physikalisch-chemischen Bedingungen möglichst vollständig überblicken zu können, bei denen eine gefundene Enzymveränderung mit einer Neubildung von Protoplasma verknüpft sein kann.

In den bakteriologischen Hand- und Lehrbüchern wird

im allgemeinen in richtiger Weise betont, daß die Mikroorganismen für ihren Zuwachs wie die Tätigkeit der Enzyme in hohem Grade von der Reaktion des Nährbodens abhängig sind, „daß aber die Bakterien eine neutrale oder schwach alkalische Reaktion bevorzugen“. Nach unseren Kenntnissen von der Reaktion der Körperflüssigkeiten dürfte dies wohl auch bei den allermeisten Vertretern der pathogenen Bakteriologie zutreffend sein. Was aber z. B. die in landwirtschaftlicher Hinsicht bedeutungsvollen echten Milchsäurebakterien betrifft, habe ich schon zeigen können^{1) 2)}, wie schlecht sich diese in die obenerwähnte Verallgemeinerung einordnen lassen, da z. B. das *Bacterium casei* ϵ — von Freudenreichs stark milchsäureproduzierender Käsereifungsbakterie — auf saure Reaktion ($pH < 7,1$) des Nährbodens unbedingt angewiesen ist. Bei diesem Bakterium ist also irgend eine „Alkalitoleranz“ gar nicht vorhanden, soweit man diese Eigenschaft durch die H- und OH-Konzentrationen, nicht durch die einem beliebigen Nährboden zugesetzten Alkalimengen definiert.

Ferner findet man häufig die Ansicht vertreten, daß die Wirksamkeit der Milch- und Essigsäurebakterien bei saurer Reaktion nur eine fortgesetzte, rein enzymatische Spaltungsarbeit sei. Diese Ansicht kann ich dahin berichtigen, daß sowohl *Streptococcus lactis* als *Bacterium casei* in mit HCl, H₂SO₄ oder H₃PO₄ angesäuerten Milchproben noch bei der Acidität $pH = 3,5$ vermehrungsfähig sind.

Das Ziel der hier mitgeteilten Versuche ist die Ermittlung der optimalen pH-Bedingungen für das Wachstum verschiedener Stämme der echten Milchsäurebakterien.

Ich will dabei bei dieser Gelegenheit besonders kräftig betonen, daß die Bedingungen des Wachstums und der charakteristischen Enzymwirkungen bei Mikroorganismen unter sich ziemlich verschieden sein können. So liegt für die Kulturhefen die optimale Wachstumsgeschwindigkeit bei $pH = 5$; bei $pH = 7$ erfolgt das Aussprossen nur noch sehr langsam, wäh-

¹⁾ O. Svanberg, Akad. Abhandlung., Stockholms Högskola 1918.

²⁾ O. Svanberg, Medd. Kgl. Vet.-Akad. Nobelinst, Arrhenius-Festschrift Bd. 5, No. 2 (1919), und Zeitschr. techn. Biol. Bd. 7 (1919).

rend die Glukosespaltung, durch Zuckeranalysen bestimmt, bei diesen beiden Aciditäten angenähert gleich schnell verläuft und noch bei $p_H = 8$, wo ein Aussprossen der Zellen vollkommen ausbleibt, mit etwa 80 % der Geschwindigkeit bei $p_H = 5$ sich vollzieht¹⁾. Bei einem Versuch über alkalische Milchsäuregärung durch *Bact. casei* ϵ , dasselbe, das schon bei $p_H = 7,1$ entwicklungsunfähig wird, ergab sich noch bei Phenolphthaleinalkalinität eine nicht unbeträchtliche Säurebildung, welche wie die alkalische Hefegärung von zugesetztem Phosphat verzögert wurde²⁾.

B. Methodisches.

Sämtliche Säurebildungs- und Wachstumsversuche in dieser Arbeit wurden in 50 ccm fassenden Erlenmeyerkölbchen ausgeführt, die mit 30 ccm Substrat beschickt und mit Wattestopfen bakteriendicht verschlossen, durch halbstündiges Kochen in Wasserdampf an zwei aneinander folgenden Tagen sterilisiert worden waren. Die Magermilch wurde in frischem Zustand ($p_H = 6,5$) aus dem Laboratorium der Milchzentrale zu Stockholm bezogen. Beim Herstellen der Molken wurde sie mit HCl (zu 1 l Milch 10 ccm 4-n HCl gibt etwa $p_H = 4,6$, das Fällungsoptimum des Caseins) $\frac{1}{2}$ Stunde mit Wasserdampf gekocht, durch Watte filtriert, sodann mit 2-n NaOH gegen Lackmus schwach alkalisch gemacht, nochmals gewärmt und von ausgeschiedenem Ca-Phosphat klar filtriert. Besonders ist hervorzuheben, daß mit Milchsäure und vor allem mit Essigsäure hergestellte Molke wegen der spezifischen Giftigkeit dieser Säuren, namentlich gegenüber *Streptococcus lactis*, bei Versuchen dieser Art nicht zu gebrauchen ist³⁾. Aus den-

¹⁾ H. v. Euler und O. Svanberg, Diese Zeitschr. Bd. 105, S. 187 (1919).

²⁾ H. v. Euler und O. Svanberg, Diese Zeitschr. Bd. 100, S. 148 (1917).

³⁾ Als Hemmungswerte der verschiedenen Säuren bei dem Wachstum von *Streptococcus lactis* in Milch wurde gefunden für

Salzsäure	$p_H = 3,4$
Schwefelsäure	$p_H = 3,4$
Phosphorsäure	$p_H = 3,5$
Milchsäure	$p_H = 4,7$
Essigsäure	$p_H = 5,1$ (Svanberg, loc. cit.)

selben Gründen ist es unzulässig, Milchsäure-Laktat oder Essigsäure-Acetat-Mischungen als Regulatoren bei den Zuwachsversuchen anzuwenden.

Die Titrationsaciditäten wurden durch Titrieren mit einer 0,204-n NaOH gegen Phenolphthalein ermittelt und sind in der Anzahl Kubikzentimeter 0,1-n NaOH auf 100 ccm Substrat (Thörners Skala) umgerechnet. Die p_H -Bestimmungen sind elektrometrisch nach der Gaskettenmethode ausgeführt worden.

Bei den Zuwachsversuchen wurden als Regulatoren Gemische von KH_2PO_4 und Na_2HPO_4 (+ 12 H_2O) angewandt. Von beiden Salzen wurden 0,36-molare Lösungen vorrätig gehalten. Zu 15 ccm der mit dem 50 ccm fassenden Kolben einmal gekochten, als Nährsubstrat verwendeten Flüssigkeit (Molke, Würze) wurden zusammen 15 ccm der Phosphatlösungen zugesetzt und die Mischung aufs neue sterilisiert. Da die Pufferwirkung der Nährsubstrate ziemlich unbestimmt ist und mir die wohldefinierten, nach Sörensens Vorschriften präparierten Phosphate nicht in genügender Menge zugänglich waren, wurden die p_H -Werte für jede Versuchsreihe besonders bestimmt, und zwar wurden zuerst p_H -Bestimmungen sowohl im Anfang — an Parallelproben, da die Versuchskolben möglichst steril zu halten waren — als zu Ende jeder Versuchsreihe ausgeführt. Da ich aber die Verhältnisse bei gleichmäßigem Arbeiten genügend reproduzierbar fand und die p_H -Werte auch in den Kölbchen, wo das Wachstum am lebhaftesten stattgefunden hatte, bei kurzen Versuchszeiten sich nur ziemlich unbedeutend nach der sauren Seite hin verschoben hatten, wurden sie bei den späteren Versuchen nur am Ende der Versuchszeit elektrometrisch kontrolliert. Die Impfung der Kolben mit 0,1 ccm der Reinkultur wurde durch jede ganze Versuchsreihe mit derselben Pipette möglichst gleichmäßig ausgeführt. Danach wurden sie gut geschüttelt und so lange bei der angegebenen Temperatur gehalten, als notwendig war, um bequem zu zählende, nicht zu große Ernten zu erhalten. Bricht man die Versuche bei einem Zeitpunkt ab, wo sich nur einige Millionen Bakterien pro Kubikzentimeter aus-

gebildet haben, so findet man nach der Erfahrung^{1) 2)} auch die Säurebildung sehr gering, was ja für diese Versuche besonders wünschenswert ist.

Um die Zellenzahlen zu ermitteln, habe ich mich der Methode des direkten Zählens unter dem Mikroskop mit Immersion (Leitz 1:12) und einem gegen eine Objektskala geeichten Mikrometerokular bedient³⁾. Die von Winterberg⁴⁾ zuerst angewandte, von Viehofer⁵⁾ sowie Aumann⁶⁾ verbesserte Methode, Bakterien in feuchtem Zustand in Blutkörperzählkammer wie Hefezellen zu zählen, scheitert hier wegen der Kleinzelligkeit der echten Milchsäurebakterien, die eine mikroskopische Zählung ohne Immersionsobjektiv kaum zuläßt, möglicherweise mit einer Ausnahme für die kräftigsten Stäbchen. Die Plattenmethode ist bei Versuchsreihen dieser Art, wo es vor allem darauf ankommt, möglichst vergleichbare Resultate zu erhalten, aus dem Grunde völlig ungeeignet, weil die verschiedenen Stämme der Bakterien bei verschiedenen Aciditäten ganz andere Neigung haben, kürzere oder längere Zellketten auszubilden, Umstände, die die Größenordnungen der mit dieser Methode erhältlichen Resultate beeinflussen können.

C. Versuche.

I. Streptococcus lactis (Bact. lactis acidi).

Stamm I. Dieser Stamm wurde in dem bakteriologischen Laboratorium der Zentralanstalt für landwirtschaftliches Versuchswesen (Experimentalfältet bei Stockholm) in der gewöhnlichen Weise durch Überimpfen aus geronnener Milch in sterile Milch und Verdünnung auf Agar erhalten. Bei 24° vorwiegend Diplokokken. Milch koaguliert bei 24° innerhalb 1½ Tagen und wird relativ kräftig gesäuert (Tab. I).

¹⁾ O. Rahn, Zentralblatt für Bakt. (II) Bd. 32, S. 375.

²⁾ E. Haglund, Medd. Nr. 162 fr. Centralanst. för förs.-väs. på jordbr.-omr. (1918).

³⁾ O. Skar, Milchwirtschaftl. Zentralblatt Bd. 41, S. 454 (1912).

⁴⁾ Winterberg, Zeitschr. für Hygiene Bd. 29, S. 75 (1889).

⁵⁾ Viehofer, Zentralblatt für Bakt. (II) Bd. 39, S. 290 (1913).

⁶⁾ Aumann, Zentralblatt für Bakt. (II) Bd. 33, S. 626 (1912) und Bd. 21, S. 307 (1911).

Tabelle I.

Säuerung von Stamm I in Milch bei 24°. 6 Kolben wurden mit der Reinkultur geimpft und von Tag zu Tag ein Kolben herausgenommen und untersucht.

Tage nach Impfen	PH	Titrationssacidität (° Th.)
0	6,3	17
2	4,02	105
3	3,88	115
4	3,91	116
5	3,95	118
6	3,93	118

Das von Boas und Leberle¹⁾ bei Hefen und Schimmelpilzen beobachtete Abnehmen des Säuregrades läßt sich also bei diesen Bakterien nicht nachweisen.

Einfluß der Verdünnung des Substrates und Einfluß des Phosphats: Verdünnt man die Milch bis zum doppelten Volumen oder mehr mit Wasser, so wachsen die Bakterien nach Impfung ebenso schnell wie in reiner Milch und rufen in fünf Tagen fast etwas größere H-Konzentrationen in den größeren Verdünnungen hervor (Tab. II).

Tabelle II.

Säuerung von Stamm I in verdünnter Milch bei 24°. In jedem Kolben 15 ccm Milch + steigende Mengen Wasser.

Wasser ccm	2 Tage nach der Impfung			5 Tage nach der Impfung		
	PH	° Th.	Milchsäure: 100 in 15 ccm Milch	PH	° Th.	Milchsäure: 100 in 15 ccm Milch
0	4,08	102	153	3,95	118	177
5	4,13	73	146	3,98	90	180
7,5	4,10	63	142	3,92	84	189
10	4,11	57	142	3,88	75	188
15	4,03	50	150	3,85	64,5	193
20	4,08	44	154	3,83	59	206

¹⁾ F. Boas und H. Leberle, Biochem. Zeitschr. Bd. 90, H. 1—2 (1918).

Die einem bestimmten p_H -Wert entsprechenden Titrationsaciditäten ($^{\circ}$ Th.) sind in den mit Wasser verdünnten Proben wegen der geringeren Pufferwirkung entsprechend kleiner und zwar, wie zu erwarten, der Verdünnung recht nahe proportional.

Dieser Effekt wird von Ch. Richet¹⁾²⁾ wegen mangelnder Berücksichtigung der aktuellen Aciditätsverhältnisse in etwas abweichender Weise gedeutet. Richet schreibt einleitungsweise: „Pour apprécier rapidement et exactement les influences qui peuvent modifier l'activité cellulaire, le ferment lactique est évidemment l'organisme de choix. En effet il est évident que le degré de l'acidité de la liqueur si facile à mesurer, mesure le degré d'activité (ou de la vitalité) du ferment.“ Demnach liegt es ja nahe, die fallenden Titrationswerte, wie Richet es tut, als eine Hungererscheinung der Bakterien zu deuten. Daß Richet ferner durch fleißiges Überimpfen keine „Anpassung der Bakterien an den Hunger“ erreichen konnte, war wohl auch durchaus zu erwarten, ist aber von dem Gesichtspunkt aus wertvoll, daß er damit einen Beitrag liefert zur Konstanz der Leistungsfähigkeit eines Bakterienstammes.

Tabelle III.

Säuerung von Stamm I in Milch + Phosphatlösung. In jedem Kolben 15 ccm Milch + steigende Mengen einer 0,36-molaren Phosphatmischung von $p_H = 6,1$.

				2 Tage nach der Impfung	
				p_H	$^{\circ}$ Th.
0 ccm	Phospaht			4,08	102
5	"	(0,09 Mol. l.)		4,12	162
7,5	"	(0,12 " ")		4,28	206
10	"	(0,14 " ")		4,33	229
15	"	(0,18 " ")		4,38	237
20	"	(0,21 " ")		4,45	258

¹⁾ Ch. Richet, Compt. rend. Bd. 158, S. 767 (1914). Chem. Centr. 1914, 1 B, S. 1597.

²⁾ Ch. Richet, Compt. rend. Bd. 158, S. 1749 (1914). Chem. Centr. 1914, 2 A, S. 417.

Phosphatlösung zur Konzentration 0,20-mol. der Milch zugesetzt scheint keine erhebliche Giftwirkung auf das Wachstum von *Streptococcus lactis* auszuüben (Tab. III). In einer vorhergehenden Mitteilung¹⁾ wurde eine recht erhebliche Hemmung bei einer Totalkonzentration von 0,36 g-mol. Na-Phosphat pro Liter beobachtet (bei $p_H = 5$ war die Hemmung vollständig, was sich aber daraus erklärt, daß die Molke, worin diese Versuche ausgeführt wurden, aus Milch durch Fällen mit Milchsäure dargestellt worden war; vgl. oben).

Die Säurebildung der Bakterien bei Phosphatzusatz — durch Titration gemessen — wird durch die erhebliche Pufferwirkung des Phosphates weit gesteigert, was leicht ein aktivierender Einfluß auf die Milchsäuregärung ähnlich den von Harden und Young für die zellfreie alkoholische Gärung festgestellte Wirkung vortäuscht^{2) 3)}. Berücksichtigt man aber die p_H -Werte, so kommt man zu einem Resultat, das geradezu in der entgegengesetzten Richtung geht. Hier tritt nämlich wieder die Erscheinung zutage, daß bei größerer Anhäufung von organischen Säuren oder deren Salzen die Säurebildung durch Mikroorganismen bei immer höheren p_H -Werten stehen bleibt. Ein solcher Effekt ist von Wolf und Harries⁴⁾ und Wolf und Telfer⁵⁾ bei *Bacillus perfringens* und *Bacillus sporogenes*, von van Dam⁶⁾ sowie neulich von Wyeth⁷⁾ bei *Bact. coli commune*, vom Verf.⁸⁾ bei *Streptococcus lactis* und *Bact. casei* festgestellt worden und wird von van Dam⁶⁾ nach Studien an *Streptococcus lactis* mit großer Wahrscheinlichkeit dahin gedeutet, daß die undissoziierten Moleküle der

¹⁾ H. Euler und O. Svanberg, Diese Zeitschr. Bd. 102, S. 176 (1918).

²⁾ H. Euler und O. Svanberg, Diese Zeitschr. Bd. 100, S. 148 (1917).

³⁾ Ch. Richet, Compt. rend. Bd. 158, S. 767 (1914).

⁴⁾ Wolf und Harries, Biochem. Journ. Bd. 11, S. 213 (1917).

⁵⁾ Wolf und Telfer, Biochem. Journ. Bd. 11, S. 197 (1917).

⁶⁾ W. van Dam, Biochem. Zeitschr. Bd. 87, S. 107 (1918).

⁷⁾ Wyeth, Biochem. Journ. Bd. 12, S. 382 (1918); Bd. 13, S. 10 (1919).

⁸⁾ O. Svanberg, Akad. Abh., Stockholm 1918.

organischen Säure von hemmendem Einfluß sind. Diese Erklärungsweise steht auch mit unseren Erfahrungen von der Giftwirkung der Salicylsäure auf die alkoholische Gärung im Einklang, welche nur bei saurer, nicht aber bei schwach alkalischer Reaktion eintritt¹⁾.

Nach dem oben erwähnten Versuch scheint es also durchaus zulässig, die Wachstumsversuche bei verschiedenen p_H bei einer Totalkonzentration der Phosphate von 0,18-g mol. pro Liter auszuführen.

Zuwachsversuche.

Tabelle IV.

Wachstum von Stamm I in Milch-Phosphatlösung (0,18-mol.)
18 Stunden bei 24°.

Nr.	Anfangs- PH	Schließl. PH	Mittel- PH	Zellenzahl pro ccm Eingeimpft 100 000	Relative Geschwindig- keit
1	4,85	4,6	4,7	90 000 000	75
2	6,10	5,95	6,0	120 000 000	100
3	6,80	6,70	6,75	1 200 000	1
4	7,45	7,40	7,4	100 000	0

Tabelle V.

Wachstum von Stamm I in Milch-Phosphatlösung.
22 Stunden bei 24°.

Nr.	Anfangs- PH	Schließl. PH	Mittel- PH	Zellenzahl pro ccm	Relative Geschwindig- keit
1	4,85	4,55	4,7	125 000 000	78
2	6,10	5,80	5,95	160 000 000	100
3	6,80	6,60	6,7	2 800 000	1,8
4	7,45	7,35	7,4	75 000	0

¹⁾ H. Euler und O. Svanberg, Diese Zeitschr. Bd. 105, S. 187 (1919).

Tabelle VI.

Wachstum von Stamm I in Milch-Phosphatlösung.
16 Stunden bei 24°.

Nr.	Anfangs- PH	Schließl. PH	Mittel- PH	Zellenzahl pro ccm	Relative Geschwindig- keit
1	4,90	4,65	4,8	58 000 000	57
2	5,60	5,40	5,5	102 000 000	100
3	6,20	6,10	6,15	80 000 000	78

Tabelle VII.

Wachstum von Stamm I in Molke-Phosphatlösung.
15 Stunden bei 24°.

Nr.	Anfangs- PH	Schließl. PH	Mittel- PH	Zellenzahl pro ccm	Relative Geschwindig- keit
1	4,80	4,55	4,7	24 000 000	30
2	5,70	5,60	5,65	80 000 000	100
3	6,15	6,05	6,1	56 000 000	70
4	6,55	6,40	6,5	41 000 000	51

Tabelle VIII.

Wachstum von Stamm I in Molke-Phosphatlösung (0,09-Mol.).
16 Stunden bei 18°.

Nr.	Anfangs- PH	Schließl. PH	Mittel- PH	Zellenzahl pro ccm	Relative Geschwindig- keit
1	5,0	4,8	4,9	1 400 000	19
2	5,85	5,8	5,85	5 200 000	72
3	6,20	6,15	6,15	7 200 000	100
4	6,55	6,50	6,5	4 000 000	56

Stamm II. Aus Stockholmer Magermilch in derselben Weise wie den vorigen isoliert. Diplokokken. Bei 24° ein wenig schwächer säurebildend als Stamm I (Tab. IX.).

Tabelle IX.

Säuerung von Stamm II in Milch bei 24°.

Tage nach dem Impfen	PH	° Th.
0	6,3	18
2	4,12	108
3	4,08	109
5	4,08	109

Zuwachsversuche.

Tabelle X.

Wachstum von Stamm II in Molke-Phosphatlösung (0.18-Mol.).
16 Stunden bei 18°.

Nr.	Mittleres pH	Zellen pro ccm	Relative Geschwindigkeit
1	4,6	7 200 000	76
2	5,7	8 200 000	86
3	6,2	9 500 000	100
4	6,7	3 200 000	34

Tabelle XI.

Wachstum von Stamm II in Molke-Phosphatlösung.
18 Stunden bei 18°.

Nr.	Mittleres pH	Zellen pro ccm	Relative Geschwindigkeit
1	4,7	8 800 000	73
2	5,7	11 200 000	93
3	6,2	12 000 000	100
4	6,7	5 200 000	43

Tabelle XII.

Wachstum von Stamm II in Molke-Phosphatlösung.
17 Stunden bei 18°.

Nr.	Mittleres pH	Zellen pro ccm	Relative Geschwindigkeit
1	5,7	8 200 000	91
2	6,2	9 000 000	100
3	6,5	6 800 000	76
4	6,8	2 600 000	29

Tabelle XIII.

Wachstum von Stamm II in Molke-Phosphatlösung.
18 Stunden bei 18°.

Nr.	Mittleres pH	Zellen pro ccm	Relative Geschwindigkeit
1	5,8	9 400 000	89
2	6,2	10 600 000	100
3	6,5	8 200 000	77
4	6,8	1 400 000	13

Stamm III. Thermophiler Streptococcus, aus Milch durch Überimpfen bei 42° zwecks Anreicherung von Laktobazillen erhalten.

Zuwachsversuche.

Tabelle XIV.

Wachstum von Stamm III in Molke-Phosphatlösung (0,18-Mol.).
16 Stunden bei 18°.

Nr.	Mittleres pH	Zellen pro ccm	Relative Geschwindigkeit
1	6,1	9 200 000	100
2	6,4	8 000 000	87
3	7,2	1 600 000	17

Tabelle XV.

Wachstum von Stamm III in Molke-Phosphatlösung. 16 Stunden bei 18°.

Nr.	Mittleres p _H	Zellen pro ccm	Relative Geschwindigkeit
1	6,15	16 000 000	100
2	6,5	11 200 000	70
3	7,2	2 600 000	16

Um sämtliche Zuwachsversuche für eine Optimumkurve des Wachstums mit gleichem Gewicht zu verwerten, habe ich aus jeder Tabelle eine p_H-Kurve der relativen Geschwindigkeit gezogen und die folgenden Werte für die entsprechenden p_H interpoliert (Tab. XVI—XVII).

Tabelle XVI.

Streptococcus lactis. Stamm I.

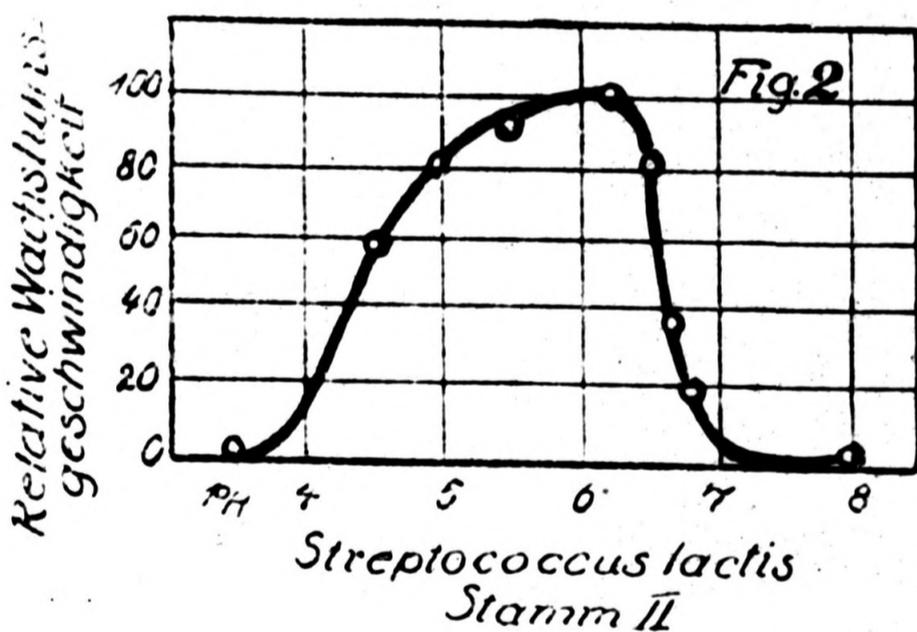
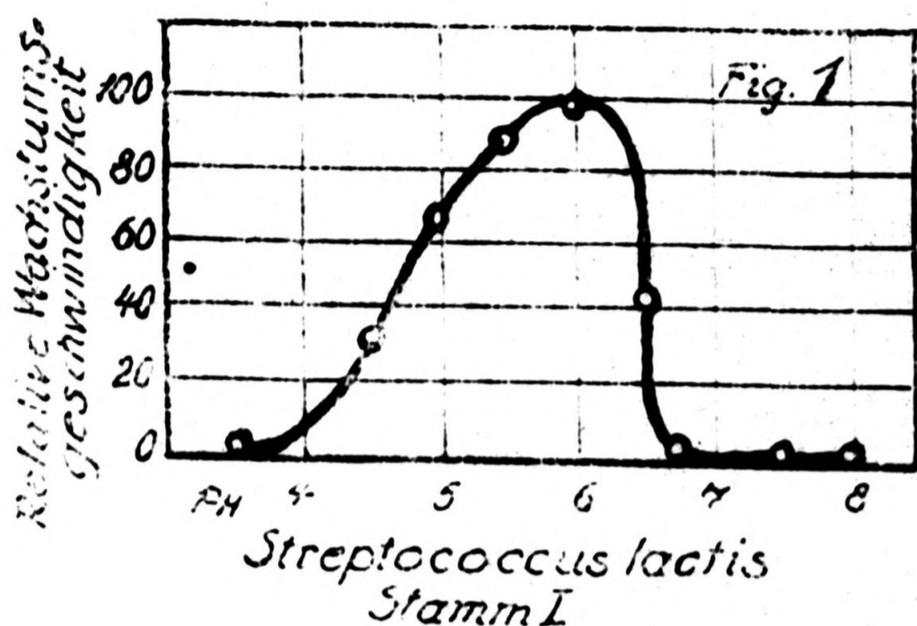
p _H	Relative Geschwindigkeit					Mittel
	Tabelle					
	IV	V	VI	VII	VIII	
4,5	60	60	30	20	10	36
5	88	88	80	65	30	70
5,5	96	96	100	98	60	90
6	100	100	98	90	98	97
6,5	40	50	20	51	56	43
6,7	1	2	—	—	—	2
7,5	0	0	—	—	—	0

Tabelle XVII.

Streptococcus lactis. Stamm II.

p _H	Relative Geschwindigkeit				Mittel
	Tabelle				
	X	XI	XII	XIII	
4,5	70	50	—	—	60
5	85	80	—	—	83
5,5	90	90	—	—	90
6,2	100	100	100	100	100
6,5	90	90	76	77	83
6,7	34	43	—	—	38
6,8	—	—	29	13	20

In den Figuren 1 und 2 sind die Mittelwerte zu einer Kurve vereinigt, die zu den früher gefundenen Wachstumsgrenzen für *Streptococcus lactis*¹⁾ ($p_H = 3,4$ bzw. $p_H = 7,9$) ausgezogen wurde. Die beiden Stämme stimmen, wie man sieht, bezüglich der Lage des Optimums und des steilen Abfalls der Virulenz zwischen $p_H = 6,5$ und $6,8$ gut überein. Auch der



thermophile Stamm III (Tab. XIV und XV) zeigte diese Erscheinung, war aber bei $p_H = 7,2$ etwas weniger geschwächt als die Stämme I und II.

II. *Bacterium casei* (Laktobazillen).

Bacterium casei ε (von Freudenreich). Dieser Stamm stellt eine Art der klassischen Käsereifungsbakterien v. Freu-

¹⁾ O. Svanberg, Akad. Abh., Stockholm 1918.

denreichs dar und ist mit dem von Barthel¹⁾ sowie von mir selbst²⁾ vielfach studierten *Bacterium casei* ϵ (l) identisch. Wachstum in langen, das mikroskopische Gesichtsfeld in allen Richtungen durchkreuzenden Verbänden. Besonders kräftige Säurebildung in Milch (Tab. XVIII).

Tabelle XVIII.

Säuerung von Bact. ϵ in Milch bei 35°.

Tage nach dem Impfen	PH	° Th.
0	6,3	21
2	3,67	138
4	3,31	248
6	3,05	311
8	2,99	346

bei einem weiteren Versuch ergab sich (Tab. XIX):

Tabelle XIX.

Säuerung von Bact. ϵ in Milch bei 35°.

Tage nach dem Impfen	PH	° Th.
0	6,3	20
2	3,88	116
4	3,27	234
6	3,19	290
12	3,05	401
15	3,05	396

Die folgenden Zahlen zeigen die gleiche Säuerung in drei Kulturen in ungehopfter gekochter Bierwürze:

0	5,07	24,5
5	3,15	82
10	3,04	93
15	3,05	98

¹⁾ Chr. Barthel, Zeitschr. für Gärungsphysiol. Bd. 2, S. 193 (1913).

²⁾ O. Svanberg, loc. cit.

Zuwachsversuche.

Wachstum von *Bact. casei* s in Molke-Phosphatlösung (0,18-Mol.)
16—18 Stunden bei 37°.

Tabelle XX.

Nr.	Mittleres pH	Zellen pr. ccm	Rel. Geschw.
1	4,6	3 800 000	38
2	5,7	10 000 000	100
3	6,2	7 200 000	72
4	6,8	400 000	4

Tabelle XXI.

Nr.	Mittleres pH	Zellen pr. ccm	Rel. Geschw.
1	4,5	5 200 000	46
2	5,7	11 200 000	100
3	6,2	10 600 000	61
4	6,9	100 000	1

Tabelle XXII.

Nr.	Mittleres pH	Zellen pr. ccm	Rel. Geschw.
1	4,4	6 000 000	43
2	4,9	12 000 000	86
3	5,8	14 000 000	100
4	6,3	2 600 000	19

Tabelle XXIII.

Nr.	Mittleres pH	Zellen pr. ccm	Rel. Geschw.
1	4,3	7 000 000	60
2	4,9	10 000 000	86
3	5,8	11 600 000	100
4	6,2	4 000 000	34

Tabelle XXIV.

Nr.	Mittleres pH	Zellen pr. ccm	Rel. Geschw.
1	5,8	4 600 000	100
2	6,2	2 900 000	63
3	6,35	1 700 000	37
4	6,9	100 000	2

Tabelle XXV.

Nr.	Mittleres pH	Zellen pr. ccm	Rel. Geschw.
1	5,8	6 400 000	100
2	6,2	3 800 000	59
3	6,5	1 200 000	19
4	6,9	100 000	2

Bacterium casei, Stamm aus Milch, durch Überimpfen bei 42° unter Zusatz von Essig und Verdünnung auf Agarplatten in Reinkultur erhalten. (Assistent E. Sandberg. Experimentalfäktet.) In Milch kurze Verbände mit 2—4 Zellen. Das Säurebildungsvermögen dieses Stammes war in Milch nicht größer als bei *Streptococcus lactis* (Tab. XXVI).

Tabelle XXVI.

Säuerung von *Bact. casei* aus Milch. Milch bei 37°.

Tage nach Impfen	pH	°Th.
0	6,2	18
2	4,62	80
3	4,40	103
5	4,13	109
6	4,04	110

Zuwachsversuche.

Wachstum von *Bact. casei* aus Milch in Molke-Phosphatlösung (0,18-Mol.)
16—18 Stunden bei 37°.

Tabelle XXVII.

Nr.	Mittleres p _H	Zellen pr. ccm	Rel. Geschw.
1	4,6	2 000 000	77
2	5,7	2 600 000	100
3	6,1	1 000 000	54
4	6,7	120 000	5

Bemerkung: In Nr. 1 einsame Zellen und kurze Ketten (< 10 Zellen),
Nr. 2: Ketten bis 50 Zellen, Nr. 3: verschlungene Zellketten, Nr. 4: ver-
einzelte schwache Zellen.

Tabelle XXVIII.

Nr.	Mittleres p _H	Zellen pr. ccm	Rel. Geschw.
1	4,6	1 800 000	75
2	5,7	2 400 000	100
3	6,2	1 000 000	42
4	6,7	40 000	2

Tabelle XXIX.

Nr.	Mittleres p _H	Zellen pr. ccm	Rel. Geschw.
1	4,6	3 400 000	29
2	5,1	9 200 000	79
3	5,75	11 600 000	100
5	6,2	3 200 000	27

Tabelle XXX.

Nr.	Mittleres p _H	Zellen pr. ccm	Rel. Geschw.
1	4,4	4 400 000	37
2	5,0	8 400 000	70
3	5,7	12 000 000	100
4	6,2	4 000 000	33

Tabelle XXXI.

Nr.	Mittleres pH	Zellen pr. ccm	Rel. Geschw.
1	5,7	9 000 000	100
2	6,1	2 000 000	22
3	6,4	800 000	9
4	6,65	240 000	3

Tabelle XXXII.

Nr.	Mittleres pH	Zellen pr. ccm	Rel. Geschw.
1	5,7	8 000 000	100
2	6,1	1 900 000	24
3	6,3	850 000	11
4	6,7	200 000	2

Obiges Zahlenmaterial ist in derselben Weise wie bei *Streptococcus lactis* zusammengefaßt worden. (Tab. XXXIII und XXXIV.)

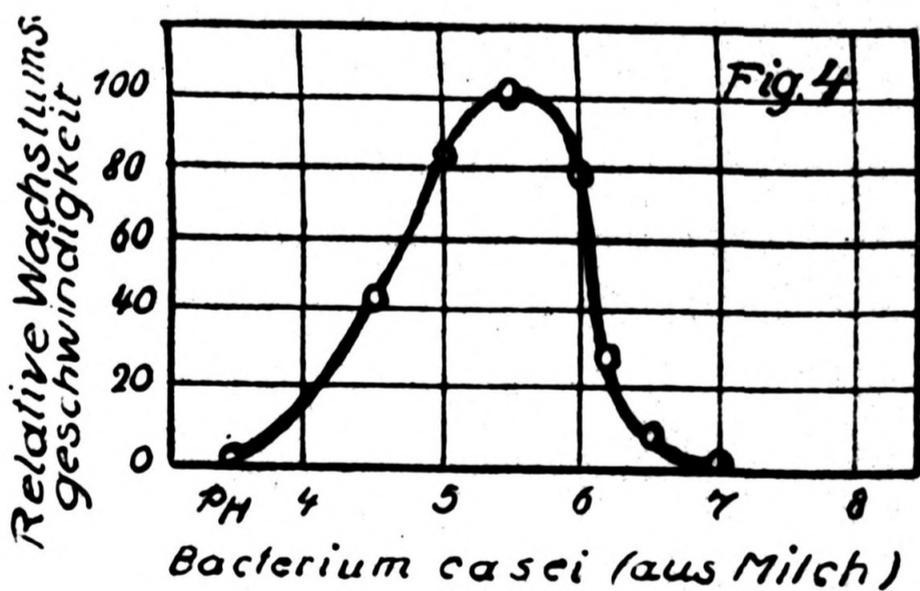
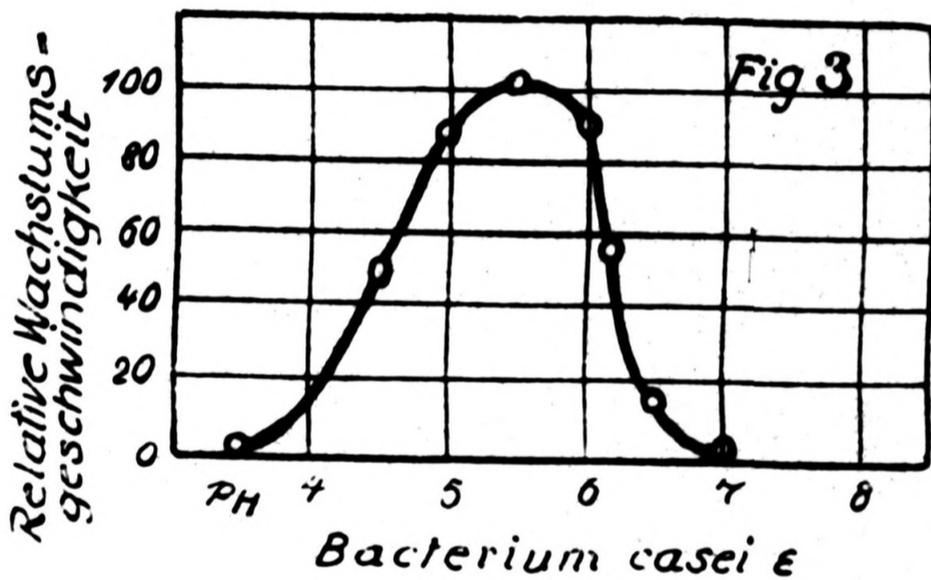
Tabelle XXXIII.

Bacterium casei ε.

pH	Relative Geschwindigkeit						Mittel
	Tabelle						
	XX	XXI	XXII	XXIII	XXIV	XV	
4,5	30	46	50	70	—	—	49
5	85	90	90	90	—	—	89
5,5	100	100	100	100	—	—	100
6	95	95	95	85	—	—	93
6,2	72	61	50	34	63	59	56
6,5	15	10	10	—	20	19	15

Tabelle XXXIV.
Bacterium casei (aus Milch).

PH	Relative Geschwindigkeit						Mittel
	Tabelle						
	XXVII	XXVIII	XXIX	XXX	XXXI	XXXII	
4,5	60	60	20	40	—	—	45
5	95	95	70	70	—	—	83
5,5	100	100	100	100	—	—	100
6	85	80	95	95	60	60	78
6,2	30	42	33	33	15	15	28
6,5	10	5	—	—	5	5	6



In den Figuren 3 und 4 sind die Mittelwerte graphisch dargestellt; die beiden Kurven sind zu den früher gefundenen Wachstumsgrenzen ($p_H = 3,4$ bzw. $p_H = 7$) ausgezogen worden. Die Aciditätsbedingungen der beiden aus verschiedenem

Material isolierten Stämme decken sich, wie man sieht, vollständig und sind im Vergleich mit *Streptococcus lactis* ein wenig nach der sauren Seite verschoben. Das Optimum liegt hier nahe bei $p_H = 5,5$ und zwischen $p_H = 6,1$ und $6,4$ tritt ein steiler Abfall der Wachstumsgeschwindigkeit ein.

III. *Bacterium Delbrücki*.

Dieses Bakterium ist nach Henneberg¹⁾, was Wachstumstemperaturen, Form und Größe der Zellen auf die Substrate der Gärungsindustrien usw. betrifft, dem *Bacterium casei* sehr ähnlich und unterscheidet sich von diesem hauptsächlich nur durch sein mangelndes Vermögen, Milchzucker zu hydrolysieren und zu vergären. Möglicherweise ist es auch ein wenig stärker thermophil, als Optimum (nach 24 Stunden) wird im allgemeinen für *Bacterium Delbrücki* $42-48^\circ$, für *Bacterium casei* $41-42^\circ$ angegeben. Ferner kommen nach Henneberg unter den aus Milch und Sauerteig erhältlichen Stämmen von *Bacterium casei* öfters Arten vor, die auffallend wenig und nur sehr langsam Milchzucker und Milch zu säuern vermögen, während sie, auf maltosehaltigen Substraten gezüchtet, von *Bacterium Delbrücki* nicht zu unterscheiden sind, und welche wahrscheinlich Übergänge zwischen den beiden Hauptgruppen darstellen, die eine scharfe Grenze zwischen *Bacterium casei* und *Bacterium Delbrücki* nicht aufrecht erhalten lassen.

Betreffs der Säurebildung in ungehopfter Würze habe ich bei Stämmen ganz verschiedener Herkunft (Preßhefe und Sauerteig) gefunden, daß sie bei *Bacterium Delbrücki* ebenso stark ist ($p_H = 3,0$) wie bei den am stärksten säureproduzierenden Vertretern der Gattung *Bacterium casei*²⁾. Henneberg behauptet, aus Milch, die bei $46-50^\circ$ spontan gesäuert war, Stämme von *Bacterium casei* erhalten zu haben, die Würze noch stärker als *Bacterium Delbrücki* säuerten.

¹⁾ Henneberg, Gärungsbakteriologisches Praktikum S. 445—491. Berlin, Verlag Paul Parey, 1909.

²⁾ O. Svanberg, Akad. Abh. Stockholm, 1918.

Die Aciditätstoleranz der lebenden Zellen scheint bei *Bacterium Delbrücki* nicht größer zu sein als bei *Bacterium casei* (Wachstum noch bei $p_H = 3,4$). *Bacterium Delbrücki* stirbt nämlich bei den von ihm erzeugten Säuremengen ($p_H = 3,0$) besonders schnell ab, so daß das Wachstum versagt, wenn man beim Temperaturoptimum nicht von ganz jungen Kulturen oder von Kreidekulturen überimpft. Die saure Seite der p_H -Kurve dürfte also bei den beiden Hauptgruppen im wesentlichen übereinstimmen; wir werden sehen, daß dies mit ziemlich großer Sicherheit für das ganze Wachstumsgebiet der Fall ist.

Eine Reinzucht von *Bacterium Delbrücki* wurde durch Einimpfen von Preßhefe (Stockholms Norra Jästfabrik) in Würze (ungehopfte Bierwürze von $p_H = 5,36$) bei 50° — wobei, wie bekannt, nur *Bacterium Delbrücki* üppig wächst — dargestellt, und durch tägliches Überimpfen in dasselbe Substrat bei 47° , später bei 45° , beim Leben gehalten. 24 Stunden nach der Impfung waren immer in den Kulturkolben prächtige „Seidenwellen“ vorhanden und im Mikroskop wurde das richtige Aussehen der Zellen festgestellt. Außerdem wurden die Stammkulturen 2 Tage nach der Impfung auf richtige Säurebildung kontrolliert (Tab. XXXV).

Tabelle XXXV.

Säuerung von *Bacterium Delbrücki* in Würze.

Überimpfung nr.	2 Tage nach der Impfung		Temp.
	p_H	$^\circ$ Th	
1	2,98	122	50°
2	3,07	110	47°
3	2,98	115	47°
4	3,27	74	47°
5	2,80	204	45°
6	2,84	198	45°
7	2,85	195	45°

Einfluß des Phosphats (Tab. XXXVI).

Tabelle XXXVI.

Säuerung von *Bacterium Delbrücki* in Würze + Phosphatlösung.
In jedem Kolben 15 ccm Würze + steigende Mengen einer 0,36-molaren
Phosphatmischung von $p_H = 5,5$.

	2 Tage nach der Impfung		5 Tage nach der Impfung	
	p_H	° Th.	p_H	° Th.
0 ccm Phosphat	2,98	115	—	—
3,75 „ „ (0,07 Mol. l.)	3,19	147	3,17	167
7,5 „ „ (0,12 „ „)	3,31	177	3,29	190
15 „ „ (0,18 „ „)	3,60	212	3,48	228

Alkaliphosphat zur Konzentration 0,18-g mol. pro Liter der Würze zugesetzt, scheint auch hier die Entwicklung der Bakterien nicht im geringsten Grade zu hemmen — vielmehr wurde ein noch üppigeres Wachstum bei den größten Phosphatkonzentrationen beobachtet — und die Titrationsaciditäten fallen wegen der Pufferwirkung der Phosphate höher aus. Die Wirkung der gesteigerten Säurebildung auf die schließlichen p_H -Werte stimmt mit den Beobachtungen an *Streptococcus lactis*, und wurde bereits in jenem Zusammenhang besprochen.

Zuwachsversuche.

Tabelle XXXVII.

Wachstum von *Bact. Delbrücki* in Würze-Phosphatlösung (0,18-Mol.).
20 Stunden bei 47°.

Nr.	Anfangs- p_H	Schließl. p_H	Zellenzahl pr. ccm
1	5,6	3,72	40 000 000
2	6,1	4,35	35 000 000
3	6,55	6,51	1 500 000
4	6,7	6,72	1 000 000

In Nr. 2 besonders lange Zellenverbände. Ein besonders starker Abfall der Wachstumsgeschwindigkeit wird zwischen p_H 6,1 und p_H 6,5 beobachtet; in den Kölbchen 1 und 2 hatte

kräftige Säuerung stattgefunden, während in Nr. 3 und 4 — $p_H = 6,5$ bzw. $6,7$ — die Bakterien nicht in genügender Menge vorhanden waren, um eine meßbare Säurebildung hervorzurufen.

Tabelle XXXVIII.

Wachstum von *Bact. Delbrücki* in Würze-Phosphatlösung (0,18-Mol.)
12 Stunden bei 47° .

Nr.	Anfangs- PH	Schließl. PH	Mittel- PH	Zellenzahl pr. ccm	Rel. Geschw.
1	4,6	4,47	4,5	8 000 000	40
2	5,6	4,76	5,2	20 000 000	100
3	6,0	5,9	5,95	800 000	4
4	6,7	6,65	6,7	< 50 000	0

Bei $p_H = 4,5$ erfolgt die Vermehrung deutlich langsamer als bei $p_H = 4,8-5,6$.

Zusammenfassung.

Es wurden mit mehreren Stämmen der echten Milchsäurebakterien, und zwar sowohl mit Laktokocken als mit Laktobazillen verschiedener Herkunft, Zuwachsversuche bei gleicher Phosphatkonzentration, aber verschiedener Acidität angestellt. Unten den Resultaten ist hervorzuheben:

I. *Streptococcus lactis* aus Milch hat ein flaches Optimum zwischen $p_H = 5,5$ und $p_H = 6,4$. Bei $p_H = 6,5-6,8$ tritt ein starker Abfall der Wachstumsgeschwindigkeit ein.

II. *Bacterium casei* hat zwischen $p_H = 5$ und $p_H = 6$ ein lang ausgezogenes Optimum. Ein steiler Abfall der Wachstumsgeschwindigkeit tritt bei $p_H = 6-6,4$ ein. Recht nahe dieselben Bedingungen gelten auch dem Wachstum von *Bacterium Delbrücki*.

Das Optimum der Laktokocken tangiert also gerade die Reaktion der Kuhmilch ($p_H = 6,5$), welches Substrat sie, wie bekannt, zwischen 15 und 30° so gut wie vollständig beherrschen. Aber noch bei $p_H = 7-7,5$ à 8 sind sie imstande¹⁾,

¹⁾ O. Svanberg, loc. cit.

sich langsam zu vermehren und das Substrat allmählich zu säuern, um beispielsweise mit den unechten Milchsäurebakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe, die zwischen etwa $p_H = 4,3$ und $p_H = 10$ wachsen, um die Herrschaft zu kämpfen¹⁾).

Aus dem für die Laktobazillen gefundenen, etwas größeren Säurebedürfnis erklärt sich die befördernde Wirkung der bei natürlicher Milchreaktion schnell voranwachsenden Laktokocken auf die Entwicklung der Milchsäurestäbchen unter verschiedenen Bedingungen; so z. B. dem Yoghurt und in den Käsen²⁾. Hier ist noch besonders hervorzuheben, daß in milchsäurehaltigen Medien die Laktokocken schon bei $p_H = 4,7$ erheblich geschwächt werden, die Laktobazillen nicht, so daß, wenn die Acidität durch Milchsäuregärung hervorgerufen worden ist, die Verhältnisse bei etwa $p_H = 5$ viel mehr zugunsten der Laktobazillen liegen, als wenn nur die H-Ionen-Kurven berücksichtigt werden. In noch höherem Grade ist dies in

¹⁾ Die Aciditätsbedingungen der Coli-Bazillen sind in der letzten Zeit von F. J. S. Wyeth (loc. cit.) besonders eingehend studiert worden. Wyeth fand bei den verschiedenen Säuren wachstumshemmende Eigenschaften, die sehr gut mit meinen Beobachtungen an Streptococcus lactis korrespondieren. Also wird nach Wyeth das Wachstum der Coli-Bazillen durch die verschiedenen Säuren bei den folgenden p_H -Werten aufgehoben:

	In 2% iger Glukose- Peptonlösung	In Glukose- Phtalatlösung
Salzsäure . . .	4,27	4,55
Milchsäure . . .	4,47	4,73
Essigsäure . . .	4,68	4,83

Frühere hier zu nennende Arbeiten über Coli-Bazillen sind diejenigen von Michaelis und Marcora, Zeitschr. für Immunitätsforsch. Bd. 14, S. 170 (1912). A. Bruenn, Dissertation, Berlin 1913. Clark, Journ. Biol. Chem. Bd. 22, S. 87 (1915). Clark and Lubs, Journ. Infect. Dis. Bd. 17, S. 160 (1915). van Dam, loc. cit. S. Cole and H. Onslow, The Lancet 1916 (II), S. 1011, schreiben einleitungsweise; „ . . . However, we found that the final hydrogen-ion concentration is in some way dependent on the non-carbohydrate content of the medium. This is not in agreement with the conclusion of Michaelis and Marcora. . . .

²⁾ Die Acidität der normal gereiften Käse beträgt in der Regel $p_H = 4,9-5,0$ (van Dam, Alleman, Chr. Barthel und Sandberg).

essigsäurehaltigen Medien der Fall, woraus die besonders günstige Einwirkung dieser Säure bei der Gewinnung natürlicher Reinzuchten von *Bacterium casei* aus Kulturen, wo auch thermophile Laktokocken vorhanden sind, erhellt.

Die Kulturhefen sind noch ein wenig mehr acidophil als die langstabförmigen Milchsäurebakterien. Ob zwischen Brauerei- und Brennereihefe, zwischen Unter- und Oberhefe in dieser Hinsicht ein Unterschied besteht, scheint einstweilen nicht ein Gegenstand für Untersuchung gewesen zu sein. Auch dürfte es sehr schwer sein, den zahlreichen Angaben der älteren Forscher auch nur einigermaßen vergleichbare Resultate zu entnehmen¹⁾, da eine rationelle Definition der Acidität in diesen Arbeiten fehlt. Für eine Brauerei-Unterhefe (H) wurde neuerdings von Euler und Svanberg²⁾ ein Optimum des Zuwachses bei p_H etwa 4,8 festgestellt. Andererseits sprossen die Kulturhefen noch bei $p_H = 7,6-7,9$ und werden durch H_2SO_4 erst bei $p_H = 2-3$ gehemmt.

Von Dernby und Avery^{3) 4)} sind die Aciditätsbedingungen mehrerer Stämme von Pneumokocken untersucht worden. Die Verfasser kommen zu dem Resultat, daß diese Bakterien nur innerhalb der engen Grenzen $p_H = 7-8,3$ wachstumsfähig sind, und daß das Optimum der Zuwachsgeschwindigkeit bei $p_H = 7,8-8,0$ liegt. Die Pneumokocken verhalten sich somit bezüglich der ganzen Lage des Wachstumsgebietes und der Optimalbedingungen von den Laktokocken völlig abweichend und sie als „pathogene Vertreter“ derselben anzusehen ist also von diesem Gesichtspunkt außerordentlich schlecht begründet.

¹⁾ E. Hägglund, Hefe und Gärung in ihrer Abhängigkeit von Wasserstoff- und Hydroxylionen, Akad. Abhandlung, Stockholm 1914. — Samml. chem. und chem.-techn. Vorträge, Stuttgart 1914, bei Enke, wo die Angaben der älteren Literatur auf diesem Gebiet zusammengestellt sind.

²⁾ H. von Euler und O. Svanberg, Diese Zeitschr. Bd. 105, S. 187 (1919).

³⁾ K. G. Dernby und O. T. Avery, Journ. Exp. Med. Bd. 28, S. 345 (1918).

⁴⁾ K. G. Dernby, Medd. Kgl. Vet.-Akad.s Nobelinst. Arrhenius-Festschrift Bd. 5, Nr. 26 (1919).

Bei flüchtiger Betrachtung scheint nach den hier mitgeteilten Zahlen über die Aciditätsbedingungen der echten Milchsäurebakterien der bekannte, besonders von Metchnikoff ausgesprochene Gedanke von einer biologischen Desinfektion des menschlichen Darmes mit Hilfe solcher Arten ziemlich aussichtslos. Die Verdauungsenzyme des Darmes wirken ja nämlich am besten bei alkalischer, aber kaum bei schwach saurer Reaktion. So liegt das p_H -Optimum der Trypsinwirkung (Pankreatin) auf Pepton nach Michaelis und Davidsohn¹⁾ bei $p_H = 8-8,5$, das Optimum der Gelatineverflüssigung (für 37°) nach Palitzsch und Walbum²⁾ sogar bei $p_H = 9,7$. Für das Erepsin ist das Optimum der Alkaleszenz, wie schon Euler³⁾ hervorgehoben, niedriger als das Optimum für die Trypsinverdauung, es liegt nach Rona und Arnheim⁴⁾, welche die peptonspaltende Wirkung dieses Enzyms studierten, bei $p_H = 7,8$. Die Pankreaslipase wirkt nach Davidsohn⁵⁾ bei etwa $p_H = 8$ am besten. Bei so alkalischer Reaktion entwickeln sich aber, wie wir sahen, die langstabförmigen Milchsäurebakterien durchaus nicht und die Laktokocken auch nur sehr langsam. Das *Bacterium coli* vermehrt sich aber — nach den Untersuchungen von Wyeth⁶⁾ — noch bei $p_H = 8-9$ sehr lebhaft und besitzt außerdem die wertvolle Eigenschaft, bei Gegenwart von Zucker eine Acidität von $p_H = 4-5$ ausbilden zu können. Schon bei $p_H = 6$ kommen aber die echten Milchsäurebakterien leicht zur Herrschaft und sind nunmehr imstande, sowohl die Colibakterien als besonders die für Säuren mehr empfindlichen, anaeroben Fäulnisbakterien des Dickdarmes — besonders *Bacterium putrificus* — völlig zu unterdrücken.

Eine Verdrängung der Colibakterien durch echte Milchsäurebakterien aus allen Gebieten des Darmes, besonders des Dünndarmes, scheint also nicht wünschenswert oder gar möglich, und es dürfte bei den erfolgreichen Versuchen von Metchnikoff und seinen Mitarbeitern das *Bacterium coli* im Darm eine wertvolle, für die Vermehrung der zugefügten Milchsäurebakterien fördernde Reaktionsverschiebung bewirkt haben.

Dem bakteriologischen Laboratorium der Zentralanstalt für landwirtschaftliches Versuchswesen, Experimentalfältet — Herrn Professor Chr. Barthel und Herrn Assistenten E. Sandberg — bin ich für die freundliche Überlassung mehrerer Reinkulturen zu vielem Danke verpflichtet.

¹⁾ L. Michaelis und H. Davidsohn, Biochem. Zeitschr. Bd. 36, S. 280 (1911).

²⁾ S. Palitzsch und L. E. Walbum, Biochem. Zeitschr. Bd. 47, S. 1 (1912).

³⁾ H. v. Euler, Diese Zeitschr. Bd. 51, S. 213 (1907).

⁴⁾ P. Rona und F. Arnheim, Biochem. Zeitschr. Bd. 57, S. 84 (1913).

⁵⁾ H. Davidsohn, Biochem. Zeitschr. Bd. 48, S. 249 (1913).

⁶⁾ Wyeth, loc. cit.