

Ueber das Wesen der Neutralrotreaktion in Bakterienkulturen

Autor(en): **Geilinger, Hans / Schweizer, Karl**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **14 (1923)**

Heft 5

PDF erstellt am: **21.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983053>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

MITTEILUNGEN

AUS DEM GEBIETE DER
LEBENSMITTELUNTERSUCHUNG UND HYGIENE

VERÖFFENTLICHT VOM EidG. GESUNDHEITSAMT

TRAVAUX DE CHIMIE ALIMENTAIRE ET D'HYGIÈNE

PUBLIÉS PAR LE SERVICE FÉDÉRAL DE L'HYGIÈNE PUBLIQUE

ABONNEMENT: Schweiz Fr. 10. — per Jahrgang. — Suisse fr. 10. — par année.
Preis einzelner Hefte Fr. 1. 80. — Prix des fascicules fr. 1. 80.

BAND XIV

1923

HEFT 5

Ueber das Wesen der Neutralrotreaktion in Bakterienkulturen.

Von Dr. HANS GEILINGER und Dr. KARL SCHWEIZER.

(Aus dem bakteriologischen Laboratorium des Eidg. Gesundheitsamtes.)

Die Neutralrotreaktion nach *Rothberger* (Farbumschlag von Rot in Kanariengelb mit gleichzeitigem Auftreten einer Grünfluoreszenz) findet Verwendung als Kulturdiagnostikum im Gebiete der Typhus-Koligruppe und bei der hygienischen Wasserbegutachtung. In letzterer Hinsicht hat sie an Bedeutung gewonnen durch die Beobachtung von *Rochaix* und *Dufourt*, dass die Reaktion als solche eine Wasserverschmutzung durch Fäkalien, Urin, Dung oder Jauche anzeigt, indem nur die Harnstoff vergärenden Mikroben imstande sind, Neutralrot in der charakteristischen Weise zu verändern.

Es ist dem Vorhandensein *saurer Reaktion im Beginne* der Neutralrot-Reaktion integrierende Bedeutung beigemessen worden. *Guerbet* hat diese nämlich rein chemisch zur Darstellung gebracht durch Reduktion des Farbstoffes in saurem Milieu mit nachfolgender Alkalisierung. *Borrand* konnte neutrale oder schwach alkalische Neutralrotbouillon ohne Zuckerzusatz durch Agarzusatz verbessern. Es lag also die Möglichkeit der Säurebildung aus Agar vor. Wir versuchten die Frage der diesbezüglichen Bedeutung des Agars zu lösen durch Kultur von 40 Koli- und koliformen Stämmen¹⁾ in mit 1% *Liebig's* Fleischextrakt und 2% Pepton *Witte* bereitetem Neutralrotagar, der im einen Falle 0,15% Traubenzucker enthielt, im andern Falle entweder einzig dieser gärbaren Substanz ermangelte oder überdies einen Agar aufwies, der vor Verwendung mit Wasser ausgelaugt worden war. Kam der Säurebildung die erwähnte Bedeutung zu, und konnte der Agar als Säurequelle nicht fungieren, so

¹⁾ Die Organismen sind charakterisiert in *Bioch. Ztschr.* **138**, 73 ff.

war ein Ausbleiben der Reaktion in den zuckerfreien Medien zu erwarten. Es ist aber auch in den letzteren zur Gasbildung gekommen, so dass auch eine saure Reaktion in der ersten Phase der Reaktion nicht ausgeschlossen werden konnte. Es haben denn auch 3 *Bact. coli communior*-Stämme *vollständige Reaktion in allen 3 Medien* verursacht. Die Möglichkeit der Bedeutung des Agars als Säurequelle liess sich also gestützt auf diesen Versuch nicht von der Hand weisen.

Ein Versuch, die möglicherweise aus Agar entstehende Säure durch Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration nachzuweisen in 3%igem Agar ohne Zuckerzusatz und in Agarextraktwasserbouillon ohne Zuckerzusatz (beide Nährmedien weisen als Grundlage jeweils 1% Fleischextrakt *Liebig*, 2% Pepton *Witte* und 0,1% Kochsalz auf), führte bei 3 Koli kommunior- und 3 koliformen Stämmen nach 24 Stunden und später zu negativem Ergebnis.

Von dem Vorhandensein einer gärbaren Substanz gab aber die *Gasbildung* im Medium mit 3% Agar durch 5 Stämme Zeugnis, ferner eine Zufallsverunreinigung im flüssigen Medium, wo ein *Streptokokkus* und eine *Sarzine* nach 5 Tagen p_H von 6,8 auf 6,4 herabsetzten. Eine Wiederholung des Versuches in Agarextraktbouillon mit den beiden jetzt getrennten verunreinigenden Keimen, ferner mit 2 Koli kommunior-Stämmen bestätigte die Fähigkeit zur Herabsetzung der p_H der beiden Kokkazeen, diesmal zeigte sich überdies auch einer der Koli-Stämme zu einer geringen Säurebildung befähigt.

Nun haben *Burri* und *Staub* nachgewiesen, dass einerseits *Bact. casei* ϑ aus Peptonschotten im flüssigen Zustande weniger Gas bildet als aus Peptonschotten mit 2% Agar, dass andererseits aber aus zuckerfreiem Peptonagargemische kein Gas gebildet wird. Es lag auf unseren Fall bezogen also nahe, die Quelle der Gasbildung in der dritten einzig noch in Betracht kommenden Substanz zu suchen, im Fleischextrakt *Liebig*. Von den obigen 6 Stämmen entwickelten denn auch 5 in einer aus 1% Fleischextrakt *Liebig* und 2% Pepton *Witte* hergestellten Bouillon Gas in kleiner Menge. Sein Nachweis wurde geführt durch Kultur im *Smith'schen Gärröhrchen* in Kombination mit der *Nachweismethode von van Steenberge* (vorsichtiges Eintauchen eines glühenden Platindrahtes in die Kulturflüssigkeit). Ein weiterer Kontrollversuch ergab die *Unvergärbbarkeit von Peptonwasser* (2% Pepton *Witte*; 0,2% Dikaliumphosphat; 0,04% $MgSO_4$, 0,25% Na_2CO_3 krist.; 0,001% $CaCl_2$ trocken) mit 8 Koli- und koliformen Stämmen, während 2%iges *Fleischextraktwasser* (obiges Salzgemisch + 2% Fleischextrakt *Liebig* und *Fleischextraktbouillon* (2% Pepton *Witte* 1% Fleischextrakt *Liebig*) von einer Anzahl von Koli- und koliformen Stämmen unter Bildung geringer Gasmengen angegriffen wurden.

Die säureliefernde Substanz ist also nicht im Agar zu suchen, sondern, wenn überhaupt vorhanden, im *Fleischextrakt*.

Eine grosse Anzahl von Beobachtungen sprach übrigens im Gegenteil eher für eine die Reaktion *beeinträchtigende Wirkung der Säure*, was sich namentlich zeigte bei Verwendung *flüssiger Medien*. Aus diesem Grunde wurde auch von einigen Autoren von der Verwendung des Traubenzuckerzusatzes, der sich den mit festen Neutralrotmedien arbeitenden Forschern als günstig erwiesen hatte, abgeraten bzw. sein Ersatz durch Milchzucker als weniger schädlich empfohlen.

Wir orientierten uns zunächst über die *Verhältnisse der Wasserstoffionenkonzentration* mittels Kultur von 9 Koli-Stämmen und 19 solcher koliformer Bakterien in einer *Fleischbrühe mit verschiedenem Traubenzuckergehalt*. Die Grundlage der Bouillon bestand aus 3⁰/₀₀ Fleischextrakt *Liebig* und 5⁰/₀₀ Pepton *Witte*. Die Dextrosezusätze waren 1 und 0,1 %²⁾. Die p_H-Werte werden innerhalb 24 Stunden nicht nur in den stärker zuckerhaltigen Kulturen (37⁰) beträchtlich herabgesetzt (von etwa 6,9 bis 4,8 bei den kräftigen Stämmen), sondern auch in denen mit 0,1 % (von etwa 6,9 bis 5,2 bei den kräftigeren Stämmen). Im weiteren Verlauf der Kultur zeigt sich bei beiden Zuckergehalten im Allgemeinen ein umgekehrtes Verhalten der p_H-Werte. Bei 1% Traubenzucker geht der p_H-Wert in der Regel noch etwas weiter herunter, während bei Gegenwart von 0,1 % Glukose im Lauf von 5 Tagen p_H umgekehrt wieder steigen kann.

Ein weiterer Versuch mit 5 Kolistämmen und 9 Koliformen (37⁰) führte zu ähnlichen Ergebnissen. Wir benutzten dazu einerseits eine Fleischextraktbouillon von der Grundlage: 2% Pepton W., 1% Fleischextrakt L., 0,1% Kochsalz, p_H = 6,9, die teils 1%, teils 0,15% Dextrose, teils keinen Zuckerzusatz erhielt, andererseits verwendeten wir 2%iges Peptonwasser mit Nährsalzgemisch. Besonders liess sich auch bei den Kulturen mit Zuckerzusatz keine Erhöhung des p_H-Wertes über den wahren Neutralpunkt (7,07) innerhalb des Zeitraumes von 16 Stunden bis zu 2 Tagen beobachten. Der Versuch zeigt auch das allmähliche Steigen des p_H beim Altern der Kulturen (5—12 Tage) im Umschlagsintervall des Neutralrotes (rot bis gelb, p_H 6,8—8,0) und darüber hinaus. Es ist dieser Farbumschlag wohl zu beachten beim Studium der Biochemie der Neutralrotreaktion. Das durch Alkaleszenz bedingte Gelb zeichnet sich durch rötlichen Ton aus gegenüber dem Kanariengelb der typischen Reaktion. Auch zeigt der Farbstoff Neigung zum Auskristallisieren.

Rochoix und *Dufourt* vindizieren der *alkalischen Reaktion* beim Zustandekommen der vollständigen Neutralrotreaktion, wobei sie den Nachdruck auf das Erscheinen der gelben Farbe (neben der Grünfluoreszenz) legen, eine ausschlaggebende Bedeutung. Sie wurden dazu geführt durch ihre Beobachtung, dass nur Mikroorganismen mit der Fähigkeit

²⁾ Das heutzutage bei Verwendung festen Substrates wohl meistens benutzte *Oldekopsche* Neutralrotmedium hat 0,15% Dextrose.

der Harnstoffvergärung die Neutralrotreaktion vollständig ergeben. Das entstehende Ammoniak würde dann die Gelbfärbung bedingen. Wir müssten also jedenfalls in der Endphase der Reaktion, die sich bei typischen Fällen schon innerhalb 24 Stunden abgespielt haben muss, eine saure Reaktion nicht nur nicht als vorteilhaft, sondern sogar direkt als Hindernis betrachten. *Guerbet* weist demgegenüber darauf hin, dass die Gegenwart von Ammoniak keine Neutralrotreaktion bedingt, indem er Umschlag in Kanariengelb mit Fluoreszenz auch bei Fehlen freien Ammoniaks in den Kulturen beobachtete, andererseits diese Färbung verschwand trotz Zunahme des Ammoniaks. Die Säure allein ist nach ihm nicht imstande, die kanariengelbe Farbe zu verändern, ebensowenig ist Alkalität allein imstande, diese typische Färbung aufrecht zu erhalten. *Ausschlaggebend ist das Vorhandensein bzw. Fehlen reduzierender Vorgänge.* Dessen ungeachtet hält *Guerbet* immer noch an der Annahme der Notwendigkeit der Gegenwart freien Ammoniaks in wenn auch noch so kleiner Menge fest.

Es lässt sich nun unschwer zeigen, dass der alkalischen Reaktion und dem Ammoniak im Besonderen beim Zustandekommen der typischen Neutralrotreaktion überhaupt keine Rolle zukommt.

Bei den für das Zustandekommen der Reaktion massgebenden Reduktionsvorgängen kann es sich nur um die Anlagerung von Wasserstoff handeln, eine Sauerstoffabspaltung kommt nicht in Betracht, schon aus dem Grunde, weil die Neutralrotmolekel kein Sauerstoffatom enthält. Es ist übrigens auch nicht an der Annahme festzuhalten, dass daneben unbedingt molekularer Wasserstoff entstehen müsse, indem Fälle vorliegen (positive Befunde *Guerbets* mit Neutralrotpeptonwasserkulturen von *Bact. coli* ohne Zuckerzusatz unter anaeroben Bedingungen), wo von der Entstehung gasförmigen Wasserstoffes kaum die Rede sein dürfte, wobei sich an Vorgänge im Sinne der Oxydoreduktion oder *Cannizzaro*-schen Reaktion denken lässt.

Beim Versuch *Guerbets*, auf den wir bereits eingangs hinwiesen, werden 10 Tropfen einer 0,25%igen Neutralrotlösung in 10 cm³ Wasser mit Zinkpulver und Essig- oder Milchsäure (10 Tropfen) anhaltend über der Flamme erhitzt. Dabei macht sich ein Farbenschlag von Johannisbeerrot über Rubinrot in Zwiebelschalenfarben bemerkbar, gleichzeitig erscheint eine an Stärke zunehmende Fluoreszenz. Dies ist die Reduktion in saurem Milieu. Es folgt nun eine allmähliche Alkalisierung, worauf nach Orangefärbung die charakteristische kanariengelbe Farbe zum Vorschein kommt.

Schüttelt man aber³⁾ vor dem Alkalizusatz mit *Amylalkohol* aus, so tritt die rote Farbe in diesen über, während die wässrige Lösung

³⁾ Für die zuvorkommende wertvolle Mitwirkung bei diesen rein chemischen Versuchen sprechen wir auch an dieser Stelle Herrn Dr. von *Fellenberg* unseren herzlichsten Dank aus.

gelb wird und grün fluoresziert. Durch wiederholte Amylalkoholextraktion lässt sich der rote Farbstoff gänzlich vom gelben trennen. *Der so gereinigte, in säurehaltigem Wasser gelöste reduzierte Farbstoff ist rein gelb und stark grün fluoreszierend.*

Versetzt man diese wässrige Lösung mit Ammoniak, so nimmt die Fluoreszenz ab, verschwindet aber nicht. Versetzt man die Lösung aber mit Salzsäure, so verschwindet bei grösseren Mengen die Fluoreszenz unter Farbumschlag über bräunlich-gelb, rötlich-braun in rot, dann violett: Es hat eine Oxydation Platz gegriffen. Durch Zusatz eines Oxydationsmittels, z. B. Persulfat, lässt sich der Vorgang beschleunigen.

Reduktion des Neutralrotes mit naszierendem Wasserstoff bei alkalischer Reaktion (orange-gelb) ist nicht gelungen.

Es ergibt sich also, dass es zum Auftreten des typischen kanariengelben, grün fluoreszierenden Farbstoffes der Anwesenheit alkalischer Reaktion und von NH_3 im besonderen gar nicht bedarf, ja dass im Gegenteil durch Ammoniakgegenwart eine Abschwächung der Fluoreszenz bedingt wird. Im Gegensatz zu *Rochaix* und *Dufourt* und in Uebereinstimmung mit *Bulir* ist bei den vorliegenden rein chemischen Versuchen dieser Farbstoff bei saurer Reaktion in die Erscheinung getreten. Was ihn aber bis jetzt oft übersehen oder nicht richtig einschätzen liess, ist der Umstand, dass seine gelbe Farbe eben leicht durch das Kirschrot des noch nicht reduzierten Neutralrestes verdeckt wird. Es dürften da unter anderem jene Fälle rangieren, wo bei kirschroter Färbung eine dunkelgrüne Fluoreszenz auftritt.

Der Charakter des *Rothbergerschen* Neutralrotumschlages als *Reduktionsreaktion* und das Massgebende der *anaeroben Verhältnisse* zum Zustandekommen einer *vollständigen und bleibenden Neutralrotreaktion in Bakterienkulturen* geht aus den folgenden zwei Versuchen hervor. Es wurde einerseits Neutralrotbouillon (mit Fleischextrakt hergestellt) ohne und mit 0,15 % Dextrose unter gut aeroben und anaeroben (*Wright-Burri*-Verschluss) Verhältnissen mit 2 Koli- und 5 koliformen Stämmen besät, andererseits der Verlauf der Wasserstoffionenkonzentration bei diesen Verhältnissen im selben Medium ohne den Neutralrotzusatz (mit etwas niedriger Anfangs- p_H , dort 6,8, hier 6,5) bei den beiden Kolistämmen verfolgt. Aus dem ersten Versuch ergibt sich zunächst, dass *bei Aerobiose niemals Fluoreszenz* sich einstellt, während die eintretende *Gelbfärbung* auf *Alkalibildung* zurückzuführen ist (Titration). In den anaeroben Kulturen ohne Zuckerzusatz führten die beiden Kolistämme und ein Koliformer im Verlauf von 2 Tagen zur Fluoreszenz mit mehr oder weniger vollständigem Farbumschlag, in jenen mit 0,15 % Dextrose ist die vollständige Reaktion schon innerhalb 24 Stunden eingetreten, ausserdem führten hier noch 3 der anderen Koliformen zum typischen Umschlag. Ungeachtet der gerade unter anaeroben Verhältnissen sauren

Endreaktion ist es hier also zum typischen Umschlag gekommen, der auch bei weiterer Beobachtung beständig blieb; auch konnte die Beobachtung *Guerbets* bestätigt werden, dass durch Entfernung des Anaerobverschlusses und Schütteln an der Luft die typische Gelbfärbung bald verschwindet, um nach und nach der bekannten Rotfärbung Platz zu machen. Der zweite Versuch aber lässt erkennen, dass analog wie im rein chemischen Versuch die *Bildung des charakteristischen Reduktionsfarbstoffes bei einer Wasserstoffionenkonzentration* sich vollzieht, die über dem wahren Neutralpunkt ($p_H = 7,07$) liegt, d. h. p_H blieb immer unter 7,07. Geprüft wurde nach 18 Stunden (die Kulturen standen während der ganzen Versuchsdauer bei 37°), 4 und 7 Tagen. Ohne den Einfluss der Reduktion wäre unter solchen Umständen Neutralrot rot geblieben, indem sein Umschlagsintervall sich von $p_H = 6,8$ bis 8,0 erstreckt, wobei der Farbstoff allmählig von rot in gelb übergeht. Da kann von einer Einwirkung freien Ammoniaks nicht die Rede sein. Es sei noch hinzugefügt, dass auch die anaeroben Kulturen *ohne* Zuckerzusatz diese Verhältnisse, nur in geringerem Grade, aufwiesen. Hier wird die Säurequelle in der im Fleischextrakt von uns nachgewiesenen gärbaren Substanz zu suchen sein.

Im Gegensatz dazu liegen bei den aeroben Kulturen ohne Traubenzuckerzusatz schon nach 18 Stunden über 6,8 befindliche Werte von p_H vor, ein Kolistamm ergibt sogar nach dieser Zeit schon $p_H = 8,0$, wo Neutralrot bereits in Orangegelb umgeschlagen haben würde. Die Wasserstoffexponenten erreichen dann später zum Teil Werte, bei denen auch Phenolphthalein in Rot umschlägt, d. h. grösser als 8,2. Auch bei den aeroben Kulturen mit 0,15 % Traubenzuckerzusatz greift nach einer anfänglichen vorübergehenden Herabsetzung des Wasserstoffexponenten (18 Stunden) Alkalibildung Platz, die zu p_H -Werten über 6,8 führt (in einem Fall bis 9,0).

In einem weiteren Versuche wurde der Verlauf des Neutralrotumschlages beobachtet in mehr oder weniger streng anaerob gehaltenen Kulturen, deren *Wasserstoffexponent von Anfang an, zum Teil beträchtlich, unter dem wahren Neutralpunkt (7,07)* gehalten worden ist. Die Kulturen hatten folgende Eigenschaften: Ohne Zuckerzusatz oder mit 0,15 % Dextrose; Angangsp_H 7,0 oder 6,4 oder 5,8 resp. 5,6 oder 4,9 resp. 4,8; streng anaerob (*Wright-Burri*-Verschluss) oder Leinöl-Deckschicht. Die Ergebnisse dieses Versuchs lassen sich folgendermassen zusammenfassen:

Der Dextrosezusatz von 0,15 % wirkt an sich fördernd auf den typischen Neutralrotumschlag. Zusatz von Säure wirkt verzögernd auf dessen Eintritt (was zum Teil auf Wachstumshemmung zurückzuführen sein dürfte). Gegenwart von Sauerstoff, auch in wohl kleiner Menge (Hochschicht, Leinölüberschichtung), beeinträchtigt die Reaktion. Bei (auch

nur beschränktem) Luftzutritt ist Dextrosegegenwart (0,15 %) nicht nur nicht mehr fördernd, sondern direkt schädigend. *Von Anfang an bestehende saure Reaktion an sich ist kein Hindernis für den vollständigen Neutralrotumschlag, sondern wirkt nur verzögernd (wohl durch Wachstumshemmung).*

Der vorige Versuch hat ergeben, dass unter streng anaeroben Verhältnissen und bei einer Anfangs- p_H von 6,5 die End- p_H nach 7 Tagen, ohne dass in der Zwischenzeit höhere Werte festgestellt werden konnten, betragen hat:

bei Kulturen ohne Zuckerzusatz 6,6 bzw. 6,65

bei Kulturen mit 0,15 % Dextrose 5,6 bzw. 5,5.

Wir sind daher genötigt, anzunehmen, dass auch im vorliegenden Versuch die *vollständige Reaktion unter andauerndem Bestehen saurer Reaktion zustande gekommen ist.*

Bedeutet der Zusatz von Zucker bei Fernhaltung des Luftsauerstoffes eine Verbesserung eines Neutralrotmediums als Quelle naszierenden Wasserstoffes, so dürfte dieser Vorteil bei Luftzutritt oft mehr als aufgewogen werden durch die Gegenwart der aus dem Zucker gebildeten Säure. Dies ist ja auch der Grund, warum bei flüssigen Neutralrotmedien unter anderem der Ersatz der Glukose durch die *Laktose* empfohlen wurde. Es wird eben aus Laktose weniger Säure gebildet.

Bulir hat die Verwendung von *Mannit* an Stelle der Dextrose vorgeschlagen, ausgehend von der an sich richtigen Ueberlegung, dass bei Gegenwart eines Zuckeralkohols, der gegenüber dem Zucker den Vorteil bietet, nicht weiter reduziert werden zu können, der so disponibel werdende Wasserstoff der Neutralrotreduktion zu gute komme. Ausschlaggebend dürfte aber bei nicht streng anaeroben Verhältnissen auch hier die durch die Mannitvergärung sich einstellende Wasserstoffzahl sein, und in dieser Hinsicht muss man sich fragen, ob die von *Bulir* vorgeschlagene Konzentration von 1 % nicht zu hoch gegriffen ist. Im Sinne dieser Ausführungen sprechen auch Beobachtungen von *Jungeblut*, der unter anderem bei Kulturen in *Bulirscher* Neutralrotbouillon eingefüllt in U-förmig gebogenen, 150 cm³ Flüssigkeit fassenden Glasröhren den Mannit durch Laktose ersetzt hatte und dabei bei Verbesserung der Neutralrotreduktion geringere Säurebildung konstatierte.

Den Zusammenhang von Art und Menge der gärbaren Substanz und Wasserstoffzahl machten wir uns klar durch Kultur eines Kolistammes in Fleischextraktbouillon, der folgende gärbare Substanzen in Mengen, wie sie in der Praxis zur Anwendung gekommen sind, zugesetzt waren: 0,2 % Dextrose, 0,5 % Dextrose (*Savagebouillon*), 0,2 % Laktose (von *Moore* und *Revis* empfohlen), 0,5 % Laktose, 0,2 % Mannit, 1 % Mannit (nach *Bulir*).

Wir geben den Versuch in folgender Tabelle wieder:

Wasserstoffexponenten (p_H).

	Nach 1 Tag			Nach 2 Tagen		Nach 5 Tagen		Nach 13 Tagen		
	Probe		Kon- trolle	Probe		Probe		Probe		Kon- trolle
	I	II		I	II	I	II	I	II	
Mit 0,2 % Dextrose . . .	5,45	5,4	7,0	5,4	5,45	5,95	5,95	7,15	7,0	6,9
» 0,5 % » . . .	4,9	4,9	7,0	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	6,9
» 0,2 % Laktose . . .	5,45	5,35	7,0	5,55	5,55	6,3	5,8	6,6	6,35	6,9
» 0,5 % » . . .	5,0	5,1	7,0	4,9	4,9	4,9	4,9	4,9	4,9	6,9
» 0,2 % Mannit . . .	5,95	6,0	7,0	6,2	6,2	6,9	6,9	6,9	6,9	6,9
» 1,0 % » . . .	5,2	5,2	7,0	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	6,9

Es ergibt sich also bei der Konzentration von 0,5 % bei Dextrose ein etwas tieferer Wert der Endwasserstoffionenkonzentration (4,7) als bei Laktose (4,9). Auch geht die Säurebildung etwas rascher vor sich mit Dextrose. Die Unterschiede sind allerdings gering. Wenn aber *Moore* und *Revis* statt eines Dextrosezusatzes von 0,5 % einen solchen von 0,2 % Laktose empfehlen, so ergeben sich wenigstens bei dem von uns geprüften einzigen Kolistamme schon so beträchtliche p_H -Unterschiede (4,9 bis 4,7 gegenüber 5,4 bis 5,6), dass sich daraus auf für die Neutralrotreaktion bei Luftzutritt günstigere Verhältnisse schliessen lässt. Ferner zeigt der Versuch, dass bei Gegenwart von 1 % Mannit nach 2 Tagen die gleiche Endwasserstoffionenkonzentration erreicht wird wie bei 0,5 % Dextrose (resp. 1 % Dextrose gemäss früherem Versuche), doch ist hier am ersten Tage p_H noch höher (5,2) als bei 1,0 und 0,5 % Dextrose (4,7 bzw. 4,9).

0,2 % Mannit bewirkt immer noch Herabsetzung des Wasserstoffexponenten (6,0), wenn auch noch geringfügigere als 0,2 % Laktose. Diese beginnt dann allmählig zu steigen, überholt aber bis zum 13. Tage nicht jene der Kontrolle (6,9), d. h. der Wasserstoffexponent befindet sich noch ganz am Anfang des Umschlagsintervalls von Neutralrot.

Jungeblut ist die geringe Empfindlichkeit der Neutralrotreduktionsreaktion beim *Bulirschens* Verfahren aufgefallen. Von 79 von ihm untersuchten kolihaltigen Wasserproben veränderten 40 die Farbe der Nährflüssigkeit überhaupt nicht, und nur 21 ergaben typischen Umschlag. Da es sich hier um, wenn auch bei 46° bebrütete, Mischkulturen handelt, so liegen die Verhältnisse komplizierter. Immerhin ist anzunehmen, dass der hohe Mannitgehalt eine Hauptursache des häufigen Versagens dieses bekannten Verfahrens bildet.

Rochoix und *Dufourt* (*Journal de physiologie et de pathologie générale* 13, 67, 1911) beobachteten einen Parallelismus im Verhalten ihrer Urobakterien gegenüber Harnstoff einerseits, Neutralrot andererseits: mit

der Abschwächung des Vermögens der Harnstoffvergärung ging auch eine solche der Fähigkeit zur Erzeugung des Neutralrotumschlages einher, umgekehrt verstärkten sich auch beide Eigenschaften gleichzeitig. Sie stellten ferner fest, dass bei abgeschwächten Stämmen, die in *Savage-Bouillon* den Umschlag nicht mehr ergaben, durch Zusatz von Harnstoff zur Kultur dieser wieder hervorgerufen werden konnte. Wir möchten, solange nicht andere Einflüsse bewiesen sind, dafür folgende Erklärung als die naheliegendste betrachten: Das infolge der Harnstoffvergärung entstehende Ammoniumkarbonat verhindert eine für das Zustandekommen der Reaktion zu weitgehende Säurebildung.

Beiträge zur Untersuchung und Beurteilung des Senfes, Tafelsenfes und anderer Senfpräparate.

Von Dr. J. PRITZKER und ROB. JUNGKUNZ, Basel.

Die Verwendung sowohl des Senfsamens als auch anderer Cruciferensamen als Gewürz, Arzneimittel, ja als Nahrungsmittel in Zeiten der Not¹⁾ ist eine uralte. Der scharfe Geschmack und die unter gewissen Bedingungen auf den Geruchsinn stark einwirkenden Eigenschaften des Senfes haben frühzeitig schon die Aufmerksamkeit des Menschen erregt, so dass es vollauf begreiflich ist, wenn im neuen Testament, sowie bei vielen griechischen Schriftstellern des Altertums der Senf und die verschiedenen Formen seiner Verwendung als Medizin mehrmals erwähnt wird. Eine kurze historische Uebersicht ist bei *Hasterlik*²⁾ sowie bei *Vuillemin*³⁾ zu finden. Bei letzterem ist auch eine Gruppe von Namen für den Senf angeführt und zwar die in romanischen Sprachen, wie: *Mostarda*, *Mostaza*, *Moutarde*, die dort sehr gut erklärt werden. Diese Namen sind dann auch in die deutsche Sprache eingedrungen, wenn auch weniger für die ganzen Samen, als für die als Gewürz sehr beliebte Zubereitung, wie z. B. *Mostrich* in Norddeutschland, *Mostard* in Westfalen etc. Die Erklärung dieser Namen ist nach *Tabernaemontanus*⁴⁾ folgende: Die Bezeichnung *Mustardum*, die er anführt, erklärt er durchaus einleuchtend als «*Mustum — ardens — scharfer — Most*». In der Tat war und ist es vielfach heute noch gebräuchlich, solchen *Mostrich* aus *Most* und Senfsamen herzustellen, ähnlich wie es auch noch heutigen

¹⁾ *Maurizio*: Die Getreide-Nahrung im Wandel der Zeiten, Orell Füssli, Zürich, 1916, S. 127.

²⁾ Der Tafelsenf (*Mostrich*), Hartlebens Verlag, Wien, 1910.

³⁾ Beiträge zur Kenntnis der Senfsamen, Dissertation, Zürich, 1904.

⁴⁾ *Tabernaemontanus* Kräuterbuch, 1731.