

Studien über die schleimige Gährung

von

Dr. phil. **Ernst Kramer.**

(Vorgelegt in der Sitzung am 16. Mai 1889.)

I.

Gewisse zuckerhaltige Flüssigkeiten, wie: Runkelrüben-, Möhren-, und Zwiebelsaft, mit Zucker versetztes Reis-, Gerste- und Amylumwasser, mehr weniger verdünnte, stickstoffhaltige Substanzen und die nothwendigen Mineralstoffe enthaltende Lösungen von Saccharose, Dextrose und Invertzucker, ferner junger alkoholarmer Weisswein, sowie auch Bier und Milch u. s. w. erleiden unter gewissen Umständen in Folge der Einwirkung bestimmter Mikro-Organismen eigenthümliche Veränderungen, die sich schon äusserlich durch ein Schleimigwerden der Flüssigkeiten kundgeben. Daher hat man diese seit langer Zeit bekannten an und für sich doch verschiedenen Vorgänge unter der Bezeichnung „schleimige Gährung“ zusammengefasst. Eine präzise Definition der schleimigen Gährung ist vorderhand noch nicht aufgestellt worden, sondern man findet selbst in den neuesten und hervorragendsten Werken über Chemie — ich erlaube mir hier nur das ausführliche Werk von **Ladenburg**¹ zu erwähnen — diesen Gegenstand ziemlich kurz und ausweichend behandelt. Zumeist begnügt man sich mit der Andeutung, dass häufig mit der Bildung von Milchsäure und Buttersäure, Verdickung und Schleimigwerden der Flüssigkeiten Hand in Hand gehen und dass hiebei in den meisten Fällen zwei Processe zu unterscheiden sind, und zwar die Bildung der genannten Organismen und die

¹ „Handwörterbuch der Chemie“ von Prof. Dr. **Ladenburg**, Breslau 1887, IV. Bd., S. 292.

Zersetzung des Kohlenhydrates unter Bildung von Mannit, Gummisubstanzen, Milchsäure u. s. w.

Mit der Untersuchung der schleimigen Gährung, welche bekanntlich seit langer Zeit die Aufmerksamkeit hervorragender Forscher an sich gezogen hat, beschäftigten sich zu allererst Braconnot¹ und François², späterhin Desfosse³, Pelouze und Jules Gay-Lussac⁴, sodann Kircher⁵, Boutron-Charlard⁶, Tilley und Maclogan⁷ und zuletzt auch Pasteur⁸.

Alle diese Untersuchungen, mit Ausnahme der Pasteur'schen, welche bereits vor dem Jahre 1841 ausgeführt worden sind, haben kaum einen besonderen wissenschaftlichen Werth und es würde zu weit führen, wenn man dieselben eingehender besprechen wollte. Nur so viel sei erwähnt, dass vor der Veröffentlichung der diesbezüglichen Pasteur'schen Untersuchungen, insbesondere über das Zähewerden des Weines, sehr verschiedene Theorien aufgestellt worden sind. So wurde man durch die Ähnlichkeit des stark zähen Weines mit Eiweiss veranlasst, die Ursache des Zähewerdens einem zu grossen Gehalt des Weines an Eiweiss zuzuschreiben. Da beim Schütteln von zähem Wein in einer zugehaltenen Flasche in den meisten Fällen ziemlich starker Druck im Innern der Flasche und eine bedeutende Gasentwicklung beim Öffnen der letzteren beobachtet wird, nahm man auch an, dass eine Art Verbindung von Eiweiss mit Kohlensäure das Zähewerden bedinge. Diese Theorie sei jedoch nur aus historischem Interesse in Kürze erwähnt.

Nach Untersuchungen von Pasteur über die schleimige Gährung wird dieselbe durch eine besondere Hefe, welche auf Traubenzucker oder vorher modificirten Rohrzucker einwirkt und dieselben in eine Art Gummi oder Dextrin, Mannit und

¹ Ann. de chimie et de phys., 1813, LXXXVI, 97.

² Ibidem, 1829, XLVI, 212.

³ Journal de Pharmacie, XV, 604.

⁴ Ann. de chimie et de phys., 1833, LII, 410.

⁵ Annalen der Chemie und Pharmacie, XXXI, 337.

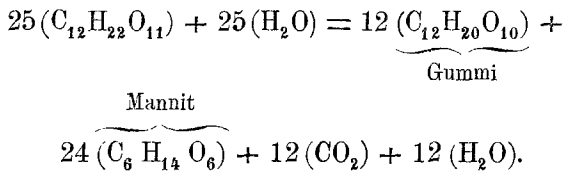
⁶ Comptes rendus, 1841, XII, 708.

⁷ Philos. Magaz., 1846, XXVIII, 12.

⁸ Bulletin de la Société chimique, 1861, 30.

Kohlensäure spaltet, hervorgerufen. Die alleinigen constanten Producte dieses Processes wären Gummi, Mannit und Kohlensäure. Während die nicht selten gleichzeitig auftretende Milchsäure, Buttersäure und das Wasserstoffgas als Producte anderer Gährungen, die durch andere Hefearten hervorgerufen werden, aufzufassen sind.

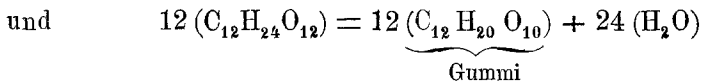
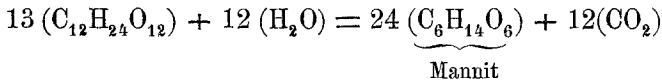
Ein besonderes Ferment, welches in zuckerhaltigen Lösungen, denen es zugesetzt wird, die schleimige Gährung hervorruft, hat zuerst Peligot¹ erwähnt, worauf späterhin Pasteur die Beobachtung machte, dass dieses Ferment aus kleinen Kügelchen von 0.0012 bis 0.0014 *mm* Durchmesser, die rosenkranzartig aneinander gereiht sind, besteht. Werden nun diese Kügelchen in eine zuckerhaltige Flüssigkeit, welche nebstdem stickstoffhaltige und mineralische Substanzen enthält, gebracht, dann tritt immer schleimige Gährung ein. Nach Pasteur erhält man somit aus 100 Theilen Zucker ungefähr 51.09 Gewichtstheile Mannit und 45.50 Theile Gummi und nebstdem soll sich auch Kohlensäure entwickeln. Hiefür stellt nun Pasteur folgende Formel auf:



Aus 100 Gewichtstheilen Zucker sollen sich demnach nebst den oben angeführten Mengen von Gummi und Mannit 6.18 Gewichtstheile Kohlensäure bilden. Diese Gleichung schien jedoch Pasteur nicht für ganz richtig gehalten zu haben, da er bemerkt, dass bei einzelnen schleimigen Gährungen Gummi in gröſseren Mengen entsteht als Mannit und soll in diesen Fällen gröſsere und auch anders gestaltete Kügelchen in den Flüssigkeiten gefunden haben. Daher hält er die Möglichkeit nicht für ausgeschlossen, dass bei diesen letztgenannten Gahrungsformen der Zucker nur in Gummi umgesetzt wird, ohne dass gleichzeitig Mannit entstehen würde.

¹ Dumas, Traité de chimie, 1843, VI, 335.

Monoyer¹ hingegen ist der Ansicht, dass die Bildung von Mannit und Gummi durch zwei ganz von einander unabhängige und neben einander verlaufende Prozesse vor sich geht. Dafür stellt er folgende Formel auf:



Die Richtigkeit dieser Annahme würde sich dadurch erweisen lassen, wenn es gelingen würde, beide Fermente von einander zu trennen und jedes für sich wirken zu lassen, was bis jetzt noch nicht gelungen ist.

Nach Béchamp² soll sich constant eine Gummiart bilden, die er mit dem Namen „Viscose“ belegt hat; dabei soll auch Mannit und CO₂ auftreten. Die Viscose ist in kaltem Wasser löslich und wird durch Alkohol gefällt; sie zeigt eine Zusammensetzung wie Stärke und ein Drehungsvermögen ähnlich demjenigen der löslichen Stärke, die Fehling'sche Lösung wird von derselben nicht reducirt. Als Ursache des Schleimigwerdens führt Béchamp jenen 0·2 μ grossen und sich vorzugsweise in Ketten lagernden *Micrococcus*, den vorher Pasteur beobachtet und beschrieben hat. Béchamp nennt ihn „*Micrococcus viscosus*“. Über Morphologie und Culturmerkmale dieses Micrococcus ist Näheres nichts bekannt.

Schmidt-Mülheim³ vermuthet, dass bei der schleimigen Gährung des Weines eigentlich zwei Gährungen neben einander verlaufen, die eine, welche Mannit und CO₂ producirt, und eine zweite, durch welche die schleimige Substanz entsteht. Seine Ansicht stimmt somit mit der oben angeführten Monoyer'schen überein. Die Bildung der schleimigen Substanz allein, ohne gleichzeitige Production von CO₂ und Mannit, beobachtete Schmidt-Mühlheim bei der sogenannten fadenziehenden

¹ Thèse pour le doctorat en Médecine, Strasbourg 1862.

² Compt. rend., Band 93.

³ Pflüger's Archiv für die ges. Physiologie. 1882. Bd. 27, S. 490.

Milch unter dem Einflusse des oben angefuhrten *Micrococcus viscosus*. Diese Gährung wirkt nachweislich auf den Milchzucker, eventuell auch auf Rohrzucker, Traubenzucker und Mannit. Die bei der Gährung gebildete schleimige Substanz wird durch Alkohol gefällt und liefert einen klebrigen Niederschlag, der in Wasser nur wenig, jedoch stark in Kalilauge quillt, durch Jodjodkalium braun gefärbt wird und die Fehling'sche Lösung reducirt. Alle diese Gahrungsformen verlaufen am besten bei einer Temperatur von 30 bis 40° C.

Ausser den hier angefuhrten Formen der schleimigen Gährung wäre weiters das Schleimigwerden des Zuckerrubensaftes und der Melasse, wie solche oft in Zuckerfabriken auftritt und für dieselben sehr verderblich werden kann, zu erwähnen. Als Ursache dieses Schleimigwerdens ist von Cienkowski¹ und van Tieghem² ein Pilz erkannt worden, welcher „*Leuconostoc mesenterioides*“³ benannt wurde. Derselbe bildet Kokkenketten die mit einer dicken zähen Gallerthulle umgeben sind, wobei durch Vereinigung zahlreicher Ketten schliesslich grosse compacte Gallertmassen entstehen. Dieser Pilz entwickelt sich an der Oberfläche von Mohrrüben- und Zuckerrubenscheiben in Form von dicken und massigen Gallertkuchen von nahezu knorpeliger Consistenz. Weiters gedeiht er in Rohrzucker- und Traubenzuckerlosungen, denen Phosphate und Nitrate zugesetzt sind. Der Rohrzucker wird dabei zunächst in Glykose umgesetzt. Wenn die Nährlösungen der Erschöpfung nahe sind, stirbt die Mehrzahl der Pilzzellen ab, einige aber, die etwas grösser, stärker lichtbrechend und derbwandiger erscheinen, bleiben als Arthrosporen bestehen und wachsen in frischer Nährlösung wieder zu neuen Kokkenketten heran.

Die Substanz der dicken zähen Gallerthulle ist von Scheibler⁴ als „Dextran“ benannt und der ganze Vorgang als „Dextrangahrung“ bezeichnet worden. Über das Wachstum des *Leuconostoc mesenterioides* auf den übrigen festen Nährböden

¹ Die Gallertbildungen des Zuckerrubensaftes. Charkow 1878.

² *Leuconostoc mesenterioides*, Ann. d. sc. nat. 6. ser. Bd. 7.

³ Sur la gomme de sucrerie. Ibidem.

⁴ Chem. Central-Blatt 1875. S. 164.

(Gelatine und Agar-Agar) ist noch nichts Näheres bekannt. Diese Gallerte zeigt sich nach Scheibler hauptsächlich nur bei Verarbeitung unreifer Rüben und tritt in diesem Falle besonders stark zu Anfang der Campagne auf, nimmt im Verlaufe derselben ab, so dass sie nahezu verschwindet, tritt aber mitunter gegen das Ende der Campagne oder bei Beginn des Frühjahrs wieder mit erneuter Stärke auf. Zur Darstellung des Dextrans hat Scheibler die Gallerte längere Zeit mit Kalkmilch gekocht, wobei sich dieselbe grösstentheils gelöst hat. Nachdem aus dem Filtrat der überschüssige Kalk durch Kohlensäure ausgefällt und der kohlenauere Kalk abfiltrirt worden ist, wurde die Flüssigkeit auf dem Wasserbade concentrirt, mit Salzsäure gesättigt und das Gummi (Dextran) in Form eines schleimigen, fadenziehenden Gerinsels durch Alkohol gefällt und sodann durch wiederholtes Auflösen und fractionirtes Fällern gereinigt.

Das reine Dextran ist ein weisser, amorpher, leicht in Wasser zu einer klebrigen Flüssigkeit löslicher Körper. Durch Alkohol wird es aus dieser Lösung als eine elastische und fadenziehende Masse gefällt. Die wässrige Lösung besitzt einen faden Geschmack und ist gegen Lakmus indifferent.

Durch das Verhalten gegen Lakmus, durch die Umbildung desselben durch verdünnte Schwefelsäure in Traubenzucker, durch die Natur der Oxydationsproducte und endlich durch das optische Verhalten unterscheidet sich nach Scheibler das Dextran auf das Bestimmteste von der ebenfalls in den Rüben vorkommenden Arabinsäure.

Das gleiche Gummi kann auch nach Scheibler¹ unter dem Einflusse einer besonderen Gährung aus dem Rübensaft auf Kosten des Zuckers gebildet werden. Überlässt man Rübensaft sich selbst, so wird er nach einiger Zeit schleimig und fadenziehend, bei weiterem Stehen verflüchtigt er sich wieder, und es tritt eine mehr oder minder rasch verlaufende Gährung ein, welche man als die schleimige, Milchsäure- oder Mannitgährung bezeichnet, und bei welcher sich Kohlensäure und Wasserstoff entwickelt. Hat die Gährung ihr Ende erreicht, so findet man darin das durch Alkohol fällbare Gummi.

¹ Berichte der Deutschen chem. Ges. 6. Bd. S. 621.

Dieses Gahrungsgummi oder Dextran soll nach A. Bruening¹ auch identisch mit jenem Gummi sein, welches bei der Milchsäuregährung neben Milchsäure, Mannit und anderen Substanzen entstehen soll.

Ausser dem hier angeführten *Leuconostoc mesenterioides* kennen wir noch einen weiteren Mikroorganismus, welcher in der Lage ist, im Zuckerrubensaft eine schleimige Gährung hervorzurufen und diess ist der *Ascococcus Billrothii*.² Derselbe wurde zuerst von Billroth auf faulem Fleischwasser und dann von Cohn auf gewöhnlicher Nährlösung beobachtet. Derselbe entwickelt auf Rubenscheiben eine weissgrunliche Schleimmasse und im Zuckerrubensaft eine schleimige Gährung. Derselbe bildet kugelige kleine Zellen (Mikrokokken) zu eigenthümlichen Colonien vereinigt. Auf der Oberfläche der Nährlösungen erscheint er als rahmartige Haut, in welcher sich zahlreiche Körperchen von kugeligem oder ovalem Umriss schon makroskopisch unterscheiden lassen. Jedes solche Körperchen zeigt sich unter dem Mikroskop aus einer 10 bis 15 μ dicken, gallertartig-knorpligen, äusserst resistenten Hülle bestehend, in welcher ein oder mehrere kugelige Einschlüsse von 20 bis 70 und mehr μ Durchmesser, die aus dicht aneinander gelagerten Kugelbakterien zusammengesetzt sind, eingelagert sind. über die Producte der durch den *Ascococcus Billrothii* Cohn im Zuckerrubensaft hervorgerufenen schleimigen Gährung ist noch nichts Näheres bekannt.

Schliesslich sei noch ein Mikro-Organismus erwähnt, nämlich *Bacillus Polymyxa* (*Clostridium polymyxa*) Prazmowski³, welche auch eine Art schleimiger Gährung hervorrufen soll. Vornehmlich soll derselbe auf gekochten Zuckerrubenscheiben Gallertmassen von grosser Ausdehnung und knorpliger Consistenz, ähnlich wie *Leuconostoc mesenterioides* Prazm. und *Ascococcus Billrothii* Cohn, bilden. Auf der Oberfläche von Nährlösungen erzeugt er eine Kahnhaut. In Grösse, Gestalt und Entwicklung ist derselbe

¹ Annalen d. Chemie und Pharmacie. 104. Bd. S. 191.

² Citirt nach Dr. C. Flüge „Die Mikroorganismen“. Leipzig 1886, S. 184.

³ Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bacterien. Leipzig 1880.

dem *Bacillus butyricus*, in dessen Begleitung er nicht selten vorkommt, ganz ähnlich. Bei Sauerstoffmangel veranlasst derselbe bei Aufgüssen von Kartoffeln, Lupinensamen u. s. w. eine intensive Gährung, deren Qualität noch nicht bekannt ist.

Aus dem Angeführten dürfte ersichtlich sein, dass die Vorgänge der schleimigen Gährung im weiteren Sinne des Wortes verschiedenartiger Natur sind und dass diess, was uns über dieselben bekannt sind, ausserordentlich grosse Lücken aufweist. Abgesehen von *Leuconostoc mesenterioïdes*, *Ascococcus Billrothii* und *Clostridium Polymyxa*, welche Schleimmassen gallertartigknorplicher Structur erzeugen können, führt man alle anderen Vorgänge der schleimigen Gährung, wie jene des Weines, der Bierwürze, der Milch, des Möhren-, Rüben- und Zwiebelsaftes, der verschiedenartigen Zuckerlösungen u. s. w. auf die Wirkung des *Micrococcus viscosus* zurück. Wenn man bedenkt, wie verschiedenartiger chemischer Natur die hier angeführten Flüssigkeiten sind, dass der Wein die Dextrose, die Bierwürze die Maltose, die Milch die Lactose, der Rübensaft die Saccharose und andere Fruchtsäfte die Lävulose als jenes Kohlehydrat, das in eine schleimige Gährung übergehen kann, enthalten und dass weiters nach Schmidt-Mülheim¹ selbst Mannit in die schleimige Gährung übergehen kann, wenn man fernerhin den Umstand berücksichtigt, dass einige der genannten Lösungen stark sauer, andere neutral oder auch amphother wie die Milch reagiren, so drängt sich unwillkürlich der Zweifel auf, dass das Schleimigwerden derselben kaum durch einen und denselben Mikro-Organismus hervorgerufen werden kann; sondern dass hiebei verschiedene specifische Organismen thätig sein müssen. Diese Ansicht wird auch dadurch unterstützt, dass es sehr unwahrscheinlich erscheint, dass ein und derselbe Mikro-Organismus das eine Mal, wie z. B. beim Schleimigwerden des Weines, Gummi, Mannit und CO₂, dass andere Mal, wie z. B. bei der schleimigen Milch, nur Gummi, ohne gleichzeitiges Auftreten von Mannit und CO₂ erzeugen könnte. Übrigens sprach seinerzeit schon Pasteur² die Vermuthung aus, dass hiebei zwei verschiedene Mikro-Organismen

¹ Pflüger's Archiv. 1882. 27. Bd. S. 490.

² Etudes sur le vin etc. Paris 1866.

wirksam sein könnten. Auch Josef Bersch¹ will im zahgewordenen Wein nebst einer Unzahl äusserst kleiner kugelförmiger Zellen stets auch andere beobachtet haben, welche ebenfalls eine vollständige Kugelform besitzen, aber von drei bis vier Mal grösserem Durchmesser sind als jene.

Wenn wir noch die bereits erwähnte Ansicht einiger Forscher, dass bei der schleimigen Gährung zuweilen neben Gummi, Mannit und CO₂ auch Milchsäure, Buttersäure und Wasserstoff auftreten kann, zu dem bereits Gesagten anführen, so dürfte wohl daraus ersichtlich sein, dass die Ansichten über die Vorgänge der schleimigen Gährung derart divergiren, wie kaum über eine zweite Frage aus dem Gebiete der Gahrungskemie und somit die Klarstellung dieser thatsächlich noch in ein Dunkel gehüllten Vorgänge als eine Nothwendigkeit herantritt.

II.

Auf Grund der obigen Ausfuhungen erschien mir die Frage über die schleimige Gährung nicht nur vom rein wissenschaftlichen, sondern auch vom praktischen, d. h. landwirtschaftlich-technischen Standpunkte derart interessant, dass ich es unternahm, über dieselbe eine Reihe von Untersuchungen anzustellen.

Hiebei sei bemerkt, dass die vorliegende Arbeit nicht etwa als abgeschlossen zu betrachten, sondern nur als eine vorläufige, vielleicht etwas ausführliche Mittheilung über eine Reihe von Versuchen, die noch fortgesetzt werden, anzusehen ist.

Ich werde mir daher erlauben, in diesem Abschnitte die verschiedenen, über die schleimige Gährung bisher von mir ausgeführten Untersuchungen anzuführen, im folgenden, d. h. im dritten Abschnitte aber die dabei erzielten Resultate in Kürze zusammenzufassen.

Selbstverständlich kann diese Frage nur vom bacteriologischen und chemischen Standpunkte gelöst werden, daher löst sich diese Arbeit von selbst in zwei Theile auf, nämlich in den bacteriologischen und den chemischen Theil.

Dabei erlaube ich mir anzuführen, dass ich den bacteriologischen Theil im botanisch-physiologischen Institute, den

¹ Die Krankheiten des Weines. Wien 1873, S. 53.

chemischen Theil hingegen im chemischen Institute der königlichen Universität in Agram ausgeführt habe. Bei dieser Gelegenheit erachte ich als angenehme Pflicht, dem Vorstande des botanisch-physiologischen Institutes, Prof. Dr. A. Heinz, nicht nur für die bereitwilligste Überlassung aller nöthigen Behelfe, sondern auch für seine Mühe, welcher sich derselbe dadurch unterzog, dass er alle meine mikroskopischen Dauerpräparate (gegen 150 an der Zahl) nochmals überprüfte, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen. Gleichfalls fühle ich mich dem Herrn Prof. Dr. G. Janeček, Vorstande des chemischen Instituts an der Universität in Agram, für mehrere für mich sehr werthvoll gewesene Andeutungen zum grössten Danke verpflichtet.

Nun wollen wir zu den bacteriologischen Untersuchungen übergehen.

Es sei gleich eingangs bemerkt, dass ich mich bei den vorliegenden Arbeiten eines C. Zeiss'schen Mikroskopes mit dem sogenannten „apochromatischen“ Objective (Apertur 1.30) und dem Abbe'schen Beleuchtungsapparate bedient habe. Die zu untersuchenden Flüssigkeiten wurden mit Hilfe einer Platin-Öse auf die Deckgläschen gebracht, auf denselben nach Thunlichkeit fein vertheilt und sodann an der Luft getrocknet. Nach dem Austrocknen wurden die Deckgläschen behufs Tödtung der Bakterien in der üblichen Weise dreimal durch eine Spiritusflamme gezogen und sodann mit Getianaviolett gefärbt. Nach abermaliger Austrocknung wurden dieselben auf die Objectgläser in Canada-Balsam eingelegt. Auf das Deckglas wurde sodann ein Tropfen Cedernöl gebracht, die Linse des „Apochromaten“ in dasselbe getaucht und sonach die Präparate betrachtet.

Bei den vorliegenden Untersuchungen über die schleimige Gährung ging ich von der Hervorrufung der schleimigen Gährung im Saft der Mohrrübe (*Daucus Carota* L.) aus. Der Möhrensaft wurde aus dem Grunde als Ausgangspunkt gewählt, da derselbe schneller, wie kaum eine zweite Flüssigkeit in schleimige Gährung übergeht.

Zu dem Behufe wurden gut gereinigte Möhren fein zerrieben und ausgepresst. Der ausgepresste Saft wurde sodann gut aufgekocht und von dem sich dabei ausgeschiedenen gelben Farb-

stoffe, Eiweissstoffen u. s. w. durch Filtration befreit. Nach durchgeführter Filtration wurde derselbe in kleinere Erlenmeier'sche Kolben gefüllt, mit Watte gut verschlossen und sodann bei einer Zimmertemperatur von 18 bis 23° C. sich selbst überlassen.

Nach 24 Stunden trat bereits die schleimige Gährung ein, nach 48 Stunden war sie in der lebhaftesten Entwicklung begriffen, hat sodann nach circa 36 Stunden den Höhepunkt erreicht und nahm dann verhältnismässig rasch ab. Dabei verdickte sich der vorher ziemlich klare und dünnflüssige Möhrensaft in den ersten 48 bis 36 Stunden syrupartig, späterhin fing er an leichtflüssig zu werden und eine weisse schleimige Substanz, die in lange Fäden ausgezogen werden konnte, am Boden des Gefässes abzusetzen.

Nun wurde der Möhrensaft sowohl zu Beginn der Gährung, als auch gegen Schluss derselben in jedem einzelnen Kolben mikroskopisch auf die vorher beschriebene Art und Weise untersucht. Das Gleiche geschah auch mit dem weissen und zähen Bodensatze. Die Untersuchung ergab das Resultat, dass sich in allen Kölbchen, nämlich im Möhrensaft, in Folge der schleimigen Gährung eine Unzahl gleichartiger Mikro-Organismen entwickelt hat. Gleichfalls bestand der Bodensatz nur aus diesen Mikro-Organismen, die ziemlich dicht aneinander standen und nur von einer durchsichtigen, nicht tingirten Substanz von einander getrennt erschienen. Vorläufig wollen wir von der Beschreibung dieser Organismen, auf welche wir späterhin ausführlich zu sprechen kommen wollen, absehen. Nachdem nun der ursprüngliche, gleich nach der Auskochung untersuchte Saft nicht einmal eine Spur von Mikro-Organismen enthielt, bei Eintritt der Gährung aber dieselben massenhaft sich zu entwickeln begannen, so liegt wohl nichts näher, dass ihre Keime bei dem Umstande, dass die Gährung unter solidem Watteverschlusse vor sich ging, nur während der Filtration, die eine gute Stunde in Anspruch nahm, in die Flüssigkeit gelangen konnten. Wenn auch unter dem Mikroskope der Schleim nur gleichartige Mikro-Organismen zu enthalten schien, so konnte derselbe doch nicht als eine Reincultur dieser Organismen betrachtet werden; da es mit Bestimmtheit angenommen werden muss, dass während der Filtration nebst diesen auch andere Mikro-Organismen in den

Saft gekommen sein mussten. Thatsächlich trat in den meisten Kölbchen, die während des Verlaufes der schleimigen Gährung nicht geöffnet wurden, nach Aufhören dieser Gährung zuerst Milchsäure- und sodann Buttersäurebildung auf und es konnte in der Flüssigkeit mit Leichtigkeit der *Bacillus acid. lactici* Hueppe und der *Bacillus butyricus* Hueppe, sowie ein ziemlich starkes Auftreten von *Saccharomyces ellipsoideus* beobachtet werden. Die in manchen Lehrbüchern der Chemie vertretene Ansicht, dass sich bei der schleimigen Gährung nebst Gummi, Mannit und CO₂ auch Milch- und Buttersäure bilden solle, dürfte wohl nur auf diesen Umstand zurückzuführen sein.

Es entstand nun die Hauptaufgabe, jenen Mikro-Organismus, von dem vermuthet wurde, dass er die schleimige Gährung hervorrufen könnte, aus diesem Gemenge zu isoliren, d. h. ihn in Reincultur zu erhalten.

Dies wurde jedoch mit einigen Schwierigkeiten verbunden; denn auf festen, durchsichtigen, normalen Nährböden als Agar-Agar und Gelatine konnte derselbe durch wiederholte Versuche nicht zur Entwicklung gebracht werden. Deshalb wurde vorläufig folgender Ausweg angewendet: Es wurden einige kleinere und ganze Stücke von Möhre (*Daucus Carota* L.) genommen; dieselben wurden zuerst durch kräftiges wiederholtes Bürsten mit Wasser gereinigt, sodann wurden sie, um eine endgiltige Vernichtung der anhaftenden Keime zu bewirken, auf eine Stunde in eine 1 pro mille-Sublimatlösung gelegt. Nach dieser Manipulation wurden dieselben in einem Koch'schen Dampfkoch-Apparate nahezu eine Stunde lang gekocht, sodann noch ganz heiss auf eine horizontale, gut sterilisirte Glasplatte gebracht und sogleich mit einer ebenfalls sterilisirten Glasglocke bedeckt. Nachdem sich die Möhren einigermaßen abgekühlt haben, wurden sie mit drei Fingern der linken, vorher in einer 1 pro mille-Sublimatlösung getauchten Hand erfasst und mit Hilfe eines vorher geglühten und wieder abgekühlten Messers der Länge nach durchgeschnitten. Die halbirtten Möhrenhälften wurden nach üblicher Methode in die sogenannten „feuchten Kammern“ zu je zwei Stück gebracht und sodann geimpft. Der Impfstoff wurde einem Kölbchen entnommen, in welchem der Möhrensaft kaum erst in die schleimige Gährung übergegangen ist und dies aus dem Grunde, da ich

durch Versuche feststellen konnte, dass im ersten Stadium der schleimigen Gährung jene Mikro-Organismen, welche dieselbe hervorrufen, alle anderen Mikro-Organismen, welche sich darin vorfinden, im erheblichsten Masse zurückdrängen. Die Impfung wurde mit Hilfe einer gut sterilisirten Platin-ose vorgenommen und es wurde das Impfmateriale durch sorgfältiges Ausstreichen und Verreiben in möglichst gleichmässiger Weise in der Mitte der Schnittoberflache vertheilt.

Bereits nach 24 Stunden trat an den Möhren die schleimige Gährung ein und machte sich dadurch bemerkbar, dass der bestrichene Theil der Schnittflächen glänzend erschien. Nach weiteren 24 Stunden sammelte sich an denselben eine bedeutende Menge eines klaren, durchsichtigen und zähflüssigen, jedoch nicht gallertartigen Schleimes an. Mit einer geringen Menge dieses Schleimes, welche mit Hilfe einer sterilisirten Platin-ose entnommen wurde, sind sodann noch einige Mohrenstucke, die auf die vorher beschriebene Art und Weise preparirt und in „feuchte Kammern“ gebracht wurden, nach der üblichen Methode bestrichen worden. Auch auf diesen Möhren trat bereits nach 24 Stunden in ganz derselben Art und Weise, wie auf den ersteren, die Schleimbildung auf.

Nun galt es, zweierlei Fragen zu beantworten. Erstens sind die an den Mohrenhalfen die Schleimbildung verursachenden Mikro-Organismen identisch mit jenen, welche auch im Möhrensaft die schleimige Gährung hervorrufen? und zweitens haben wir es im vorliegenden Falle bereits mit Reinculturen zu thun?

Behufs Beantwortung der ersten Frage wurde frisch bereiteter, abgekochter und filtrirter Möhrensaft in Reagensgläser zu zwei Dritteln ihres Inhaltes gefüllt, mit dem üblichen Wattenverschluss versehen und sodann durch eine Stunde im Koch'schen Dampfkoeh-Apparate gekocht. Nach Beendigung dieser Manipulation wurde der auf die eben beschriebene Art und Weise sterilisirte Saft mit dem sich an den Möhrenscheiben gebildeten Schleime geimpft.

Thatsächlich trat in allen geimpften Reagensgläsern die schleimige Gährung schon nach 24 Stunden ein, während der

Saft in den nicht geimpften Reagensgläsern wochenlang absolut keine Veränderung zeigte.

Der Schleim der Möhrenscheiben sowohl, als auch jener in den geimpften Reagensgläsern wurde nach der oben beschriebenen Methode mikroskopisch untersucht und es wurde in demselben in allen Fällen ein massenhaftes Auftreten ganz spezifischer und gleichwerthiger Mikro-Organismen constatirt. Daher unterlag keinem Zweifel, dass man es in den vorliegenden Fällen mit Reinculturen zu thun hatte; denn von anderweitigen Mikro-Organismen, wie dem *Bacillus butyricus*, *Bacillus acid. lactici*, den Saccharomyceten u. s. w. wurde nicht in einem einzigen der zahlreich hergestellten Präparate eine Spur vorgefunden. Diese Thatsache hat sich späterhin von selbst bestätigt, da die Möhrenculturen, die sorgfältig in den „feuchten Kammern“ durch mehr als sechs Wochen verschlossen wurden, während dieser ganzen Zeit sich vollkommen rein erhalten haben, der Schleim blieb klar, bis er schliesslich sammt den Möhrenscheiben eintrocknete und dieselben dabei keine Veränderung und Zersetzung an den Tag legten.

Die mikroskopische Untersuchung zeigte, dass diese Mikro-Organismen nichts Anderes als Bakterien, und zwar Stäbchenbakterien sind, welche eine Dicke von $1\ \mu$ und eine durchschnittliche Länge von 2.5 bis $4\ \mu$ besitzen. Der Möhrensaft scheint ihnen als Nährlösung ausserordentlich gut zu entsprechen. Ist die schleimige Gärung in demselben in vollen Gange und wird der Saft gar nicht geschüttelt, sondern nach Thunlichkeit ruhig stehen gelassen, so entwickeln sie sich zu Ketten, die auch bis zu 50 Stäbchen zählen können. Die Stäbchen sind nicht ganz genau rechteckig, sondern an beiden Enden schwach abgerundet. In ihrem ersten Entwicklungsstadium, insbesondere, wenn sie an den Enden der Ketten abgeschnürt werden, besitzen sie mehr weniger eine rundliche Form, so dass die Länge des Längsdurchmessers jene des Querdurchmessers kaum merkbar übertrifft. In den späteren Entwicklungsstadien verlängern sie sich beträchtlich. Ist die schleimige Gärung im Möhrensaft bereits soweit vorgeschritten, dass ein grosser Theil des gebildeten Schleimes zu Boden gefallen ist, dann können Ketten nicht mehr beobachtet werden, sondern man findet die Stäbchen zumeist ein-

zeln, oder zu zweien, oder höchstens zu dreien vereinigt. Die Vereinigung zweier solcher Stäbchen hat gewöhnlich eine bisquitformige Gestalt.

Im „hängenden“ Tropfen konnte eine Eigenbewegung nicht, wohl aber mit Leichtigkeit die sogenannte Brown'sche Molecularbewegung, beobachtet werden. Auch erschien es bei einer 1010-fachen Vergrösserung (Zeiss F. Ocular 4), als ob die Stäbchen mit einem schwachlichtbrechenden Hofe umgeben wären. Ob aber dieses auf eine Verquellung der äusseren Schichten der Membrane zurückzuführen ist, kann ich vorläufig mit Bestimmtheit nicht behaupten.

Es trat nun die wichtige Frage heran: Ist dieser Bacillus fähig, ausser im Möhrensaft auch in anderen Flüssigkeiten die schleimige Gährung hervorzurufen? Behufs Beantwortung dieser Frage wurden nun der Reihe nach folgende Flüssigkeiten mit den Mohrenculturen geimpft, und zwar:

1. Eine 10%ige Lösung von Saccharose ohne jede Beigabe mineralischer und stickstoffhaltiger Substanzen.

2. Eine 10%ige Lösung von Saccharose, welche mit einigen Tropfen von phosphorsaurem Kali und circa einem halben Procent Pepton versetzt wurde.

3. Eine 10%ige Lösung von Saccharose, welcher einige Tropfen phosphorsauren Kali und 1% weinsaures Ammoniak beigegeben wurde.

4. Eine 10%ige Lösung von Saccharose, der eine geringe Menge Pflanzenasche (etwa 0.20%) nebst 0.8% Pepton versetzt wurde.

5. Eine Abkochung von Gerste, die soweit mit Wasser verdünnt worden ist, dass sie noch durch gewöhnliches Filtrirpapier filtrirt werden konnte und welcher beiläufig 4% Saccharose zugegeben worden sind.

6. Eine auf die gleiche Art und Weise vorbereitete und mit 4% Saccharose versetzte Reisabkochung.

7. Eine ebenso bereitete und mit 4% Saccharose versetzte Weizenabkochung.

8. Abgekochter und sodann filtrirter Saft von Zuckerrüben.

9. Abgekochter, mit Wasser verdünnter und sodann filtrirter Saft von Zwiebeln.

10. Frisch bereiteter und filtrirter Weinmost.
11. Eine beiläufig 10⁰/₀ige mit den nöthigen Mineralstoffen und 0·5⁰/₀ Pepton versetzte Lösung von Glykose.
12. Eine 10⁰/₀ige mit Mineralstoffen und 0·5⁰/₀ Pepton versetzte Lösung von Milchzucker.
13. Eine 10⁰/₀ige mit Mineralstoffen und 0·5⁰/₀ Pepton versetzte Lösung von Mannit.
14. Eine 5⁰/₀ige Lösung von Milchzucker, welcher die nöthigen Mineralstoffe und etwas Pepton zugesetzt worden ist.
15. Eine 5⁰/₀ige Lösung von Mannit nebst Mineralstoffen und Pepton wie vorher.
16. Junger und schwacher Weisswein.
17. Junger und schwacher Weisswein (anderer Provenienz wie der vorige).
18. Alter und verhältnissmässig schwacher mit 2⁰/₀ Traubenzucker und beiläufig mit 0·5⁰/₀ Pepton versetzter Weisswein.
19. Frische Milch.

Hiebei erlaube ich mir zu bemerken, dass ich noch nachstehende Flüssigkeit gerne geimpft hätte, und zwar Lösungen von Invertzucker, Lävulose, Maltose und die Bierwürze, zu welchen Versuchen ich jedoch vorderhand noch nicht kommen konnte, glaube aber in der nächsten Zeit zur Durchführung derselben gelangen zu können.

Es braucht kaum hervorgehoben werden, dass alle oben angeführten Versuche, nämlich jeder einzelne davon, mindestens doppelt ausgeführt wurden, gewöhnlich wurde aber mit jeder dieser Flüssigkeiten eine ganze Reihe von Impfungen vorgenommen und dieselben so lange fortgesetzt, bis ganz bestimmte und constante Resultate erzielt worden sind.

Die oben angegebenen Flüssigkeiten, also lauter flüssige Nährboden äusserst verschiedener chemischer Zusammensetzung, wurden der Reihe nach theils in kleinere Erlenmeier'sche Kölbchen, theils in Reagensgläser gefüllt, mit den üblichen Watterverschlüssen versehen und sodann durch eine gute Stunde im Koch'schen Dampfkoch-Apparate sterilisirt. Eine Ausnahme hiervon machten nur die Weissweine und die Milch, welche aus

leicht begreiflichen Gründen einer „fractionirten Sterilisation“ unterzogen wurden.

Diese Flüssigkeiten wurden sonach mit den Mohrenculturen des oben beschriebenen Bacillus in der üblichen Weise geimpft und in einem geheizten Locale bei einer Temperatur von 18° bis 23° C. aufgestellt.

Die Resultate dieser Impfungen sind nun Folgende:

Ad. 1. Die Lösungen erhielten sich Monate lang ganz klar, eine schleimige Gährung konnte unter keinen Umständen in denselben hervorgerufen werden. Ein Beweis, dass sich der obangefuhrte Bacillus ohne mineralische und stickstoffhaltige Substanzen absolut nicht entwickeln kann.

Ad 2. Die schleimige Gährung trat ausnahmslos bereits nach 12 Stunden ein. Nach 36 Stunden wurden die früher leichtflüssigen, klaren Lösungen weiss getrübt und derart dickflüssig, dass sie sich in Fäden ziehen liessen.

Ad 3. Auch hier trat die schleimige Gährung nach guten 12 Stunden ein, die weissliche Färbung und syrupartige Consistenz wurde jedoch erst nach acht Tagen beobachtet.

Ad. 4. Das Schleimigwerden der Lösung ging gerade so, wie bei Versuch 3 vor sich.

Ad 5. Die schleimige Gährung trat auch hier nach 12 Stunden ein und schritt nahezu so rasch weiter, wie bei Versuch 2.

Ad. 6. Das Schleimigwerden entwickelte sich ganz so wie beim vorhergehenden Versuche 5.

Ad 7. Das Schleimigwerden ging genau so vor sich, wie bei Versuch 6.

Ad. 8. Das Schleimigwerden trat nach 12 Stunden ein; der Saft wurde bereits nach 24 Stunden dick.

Ad 9. Ging ebenso wie der Zuckerrubensaft sehr schnell in schleimige Gährung über.

Ad 10. Der Weinmost konnte weder als solcher, noch zur Hälfte mit Wasser verdünnt schleimig gemacht werden. Die genannten Bacillen entwickeln sich nicht in demselben.

Ad 11. Glykose konnte ich bis jetzt in schleimige Gährung, so dass sich dabei ein Schleim gebildet hätte, nicht bringen, doch können ihre Lösungen dem obangefuhrten Bacillus

als Nährboden dienen, derselbe kann sich in ihnen gut entwickeln und dabei ziemlich stark vermehren. Ketten bildet er in derselben nicht.

Ad 12. Lösungen von Milchzucker konnten in keinem einzigen Falle schleimig gemacht werden. Der genannte Bacillus kann sich in denselben nicht vermehren.

Ad 13. Auch Lösungen von Mannit konnten in keinem einzigen Falle schleimig gemacht werden.

Ad 14 und 15. Auch auf verdünntere Milchzucker- und Mannitlösungen übte der genannte Bacillus keinen Einfluss aus.

Ad 16 und 17. Junge und schwache Weissweine konnten durch diesen Mikro-Organismus selbst nach monatelangem Stehen nicht schleimig gemacht werden.

Ad 18. Dasselbe war auch mit altem Weissweine der Fall.

Ad 19. Frische Milch ging in keinem einzigen Falle in schleimige Gährung über.

Aus dem Angeführten ist es ersichtlich, dass dieser Bacillus nur in jenen Flüssigkeiten, welche Saccharose und die nöthigen Mineralstoffe und stickstoffhaltigen Substanzen enthalten, die schleimige Gährung hervorrufen kann. Ohne Mineralstoffe und Stickstoff-Substanzen ist seine Vermehrung unmöglich und ein Schleimigwerden nicht zu erwarten. In welcher Form den Zuckerlösungen die nöthigen Mineralstoffe und Stickstoff-Substanzen zugesetzt werden, ob als Pflanzenasche und Pepton, oder als Salzlösungen und weinsauerer Ammoniak, eventuell salpetersauerer Kali oder auch als Abkochungen diverser Getreidesamen u. s. w., ist einerlei. Die Saccharose scheint thatsächlich (vielleicht einzig und allein) jenes Kohlenhydrat zu sein, welches von diesem Bacillus unter Bildung von CO_2 und Mannit in Schleim umgewandelt wird. Milchzucker wird von demselben nicht in schleimige Gährung gebracht, deshalb ist diess ebensowenig von der Milch zu erwarten. Sterilisirte und geimpfte Milch wurde sowohl bei gewöhnlicher Zimmertemperatur als auch im d'Arsonval'schen Thermostaten bei einer Temperatur von constanten 32°C . Wochen lang stehen gelassen, ohne dass schleimige Gährung eingetreten wäre.

Ähnlich verhält sich auch Mannit. Dextrose scheint ihm zwar als ein nothdürftiger Nährboden dienen zu können, Schleim-

bildung konnte ich jedoch in den Lösungen derselben bis jetzt nicht beobachten. Wie sich derselbe gegenüber der Maltose und Lävulose verhält, konnte ich noch nicht feststellen.

Besonders beachtenswerth erscheint der Umstand, dass sowohl der Traubensaft (Most), als auch der Weisswein, welcher mit diesem Bacillus geimpft worden ist, unter keinen Umständen schleimig gemacht werden konnte. Derselbe wurde Monate lang in Localitäten bei einer Temperatur von 18 bis 23° C. aufbewahrt, er blieb vollkommen klar und unverändert. Auch ein 14tagiges Erwärmen im d'Arsonval'schen Termostaten auf 32° C. hatte absolut keine Einwirkung zu Gunsten der schleimigen Gährung. Ja noch mehr, in allen diesen Weinen konnte unter dem Mikroskope nicht einmal eine Spur des Impfstoffes aufgefunden, sondern nur im Bodensatze desselben constatirt werden. Es hat den Anschein, als ob dieser Bacillus in den Wein gebracht, nach kurzer Zeit zu Grunde gehen und zu Boden sinken würde.

Diese Vermuthung konnte ich späterhin auch bestätigen. Es erscheint nämlich von Haus aus wenig plausibel, dass ein und dieselbe Bakterienart einmal in einem schwach alkalischen oder neutralen, das andere Mal in einem verhältnissmässig stark saueren Nährboden sich gleich gut entwickeln und vermehren könnte. Denn alle vorher angefuhrten Saccharose-Lösungen, in denen derselbe die schleimige Gährung hervorgerufen hat, reagirten schwach alkalisch oder neutral. Ganz anders verhält es sich mit dem Traubensaft und dem Weine. Beide Flüssigkeiten sind stark sauer, sie weisen einen Gesamt-Säuregehalt von 0.4 bis 0.7 Procent unter normalen Verhältnissen auf.

Um sich nun zu überzeugen, ob dem besagten Bacillus ein mehr weniger saurer Nährboden behagt, oder ihn in seinem Fortkommen gänzlich hindert, wurden folgende Versuche angestellt:

Eine 10%ige mit den nöthigen Mineralstoffen und Pepton versetzte Saccharose-Lösung wurde in zwei Theile getheilt. Der eine Theil wurde einfach nach der üblichen Art und Weise mit dem besagten Bacillus (Mohrencultur) geimpft. Der zweite Theil hingegen in drei Erlenmeier'sche Kölbchen vertheilt, wovon die Saccharose-Lösung des einen Kölbchens mit 0.1%, die des zweiten mit 0.2% und die des dritten mit 0.3% Weinsäure versetzt

worden ist. Von jeder dieser drei Lösungen wurden je zwei Reagensgläschen bis zu zwei Drittel ihres Inhaltes gefüllt, mit dem üblichen Watteverschluss versehen und sodann im Koch'sehen Dampfkoch-Apparate sterilisirt. Nach Beendigung dieser Manipulation wurden sie mit derselben Möhrencultur, wie dies bei den nicht mit Weinsäure versetzten Saccharose-Lösungen der Fall war, geimpft.

Das Resultat dieser Impfungen war Folgendes:

Die neutralen (nicht mit Weinsäure versetzten) Saccharose-Lösungen gingen bereits nach 12 Stunden in schleimige Gährung über und wurden nach weiteren 24 Stunden nahezu ganz dickflüssig. Von den weinsauren Saccharose-Lösungen ist nach wochenlangem Stehen nicht eine einzige schleimig geworden. Damit ist gewiss ein genügender Beweis erbracht, dass der besagte Bacillus gegen saure Nährböden ausserordentlich empfindlich ist, denn schon ein Säuregehalt von 0.1% genügt, dass er eine Saccharose-Lösung nicht nur nicht schleimig machen kann, sondern noch mehr, er kann schon bei diesem geringen Säuregehalte nicht in derselben fortkommen. Alle drei genannten sauren Lösungen enthalten, wie es mikroskopisch nachgewiesen wurde, gar keine Bacillen, denn selbst diejenigen, welche durch die Impfung hineingekommen sind, konnten nur im Bodensatze nachgewiesen werden.

Daraus ist wohl einleuchtend, dass ein Mikro-Organismus, welcher schon einen Säuregehalt von 0.1% nicht vertragen kann, wird noch weniger im Weine, welcher selbst die achtfache Säuremenge enthalten kann, fortkommen und etwa noch die schleimige Gährung hervorrufen können.

Das Schleimigwerden des Weines dürfte daher von einem ganz anderen Mikro-Organismus hervorgerufen werden, welcher zu denjenigen wenigen bekannten Bakterien zu zählen sein wird, welche nur auf sauren Nährboden vegetiren können. Bekanntlich kommt die grösste Mehrzahl der Bakterien nur in schwach alkalischen oder neutralen Lösungen gut fort.

Alle bisher vorgeführten Versuche hatten bekanntlich den schleimigen Möhrensaft, respective die durch denselben hervorgerufenen Möhrenculturen zu ihrem Ausgangspunkte.

Es drängt sich nun von selbst die weitere Frage auf: Was geschieht mit Lösungen von Saccharose, denen Mineralstoffe und

Pepton oder aber Abkochungen von Getreidesamen zugesetzt worden sind, ferner mit dem Saft von Zuckerrüben und Zwiebeln, wenn diese Flüssigkeiten kürzere Zeit unverschlossen an der Luft stehen gelassen werden? Werden diese Flüssigkeiten auch in schleimige Gährung übergehen? Was für Mikro-Organismen entwickeln sich in diesem Falle in ihnen?

Behufs Beantwortung dieser Frage wurden folgende Versuche durchgeführt:

Es wurden frische Lösungen von Saccharose, die mit Mineralsubstanzen und Pepton versetzt wurden, ferner Saccharose-Lösungen, denen entweder Abkochungen von Gerste oder von Reis und Weizen beigegeben worden sind, ferner Zuckerrüben- und Zwiebelsaft bereitet. Dieselben wurden sodann gut ausgekocht und filtrirt, die Filtration nahm circa 2 Stunden in Anspruch. Nach beendeter Filtration wurden die Flüssigkeiten sogleich in Erlenmeier'sche Kölbchen gefüllt und bei einer Zimmertemperatur von 18° bis 23° C., nachdem sie vorher mit dem üblichen Watteverschluss versehen worden sind, stehen gelassen. Diese Flüssigkeiten kamen somit durch circa zwei gute Stunden mit der Luft in Beruhung.

Nach Verlauf von 12 bis 36 Stunden stellte sich in allen Flüssigkeiten die schleimige Gährung ein. Der Schleim in einem jeden Kölbchen wurde mikroskopisch untersucht und wurden in jedem ausnahmslos grosse Massen jenes 1 μ dicken und 2·5 bis 4 μ langen Bacillus, den wir auch im Möhrensaft angetroffen und oben näher gekennzeichnet haben, vorgefunden.

Behufs Constatirung der Identität dieses Bacillus mit jenem das Schleimigwerden des Mohrensaftes verursachenden, wurde eine Reihe von Gegen-Impfversuchen angestellt. Es wurde nämlich eine grössere Anzahl von mit frisch bereitetem Möhrensaft gefüllten, gut sterilisirten und mit Watte verschlossenen Reagensgläsern geimpft, und zwar je zwei mit dem Schleim der mit Pepton und Mineralstoffen versetzten Saccharose-Lösung, sodann je zwei mit dem Schleim der mit Gerste-, Reis- und Weizen-Abkochungen versetzten Lösungen von Saccharose und schliesslich mit dem Schleim des schleimig gewordenen Zuckerrüben- und Zwiebelsaftes.

Das Resultat dieser Impfungen war, dass nämlich alle mit den Schleimen dieser verschiedenartigen Flüssigkeit geimpften Möhrensäfte in schleimige Gärung schon nach 12 bis 24 Stunden übergingen. Die mikroskopische Untersuchung dieser Schleime ergab das Resultat, dass sich in jedem derselben ausnahmslos massenhaft die oben beschriebenen 1μ dicken und 2.5 bis 4μ langen Bacillen entwickelt und das Schleimigwerden verursacht haben.

Einen Mikroccoccus, wie ihn Pasteur¹ im schleimigen Wein und saccharosehältigen Flüssigkeiten, Schmidt-Mühlheim² in der fadenziehenden Milch vorgefunden haben will und welcher nach Pasteur aus Kokken, die nur 0.2μ Durchmesser besitzen und sich vornehmlich in Ketten lagern sollen; jene in der fadenziehenden Milch hingegen nach Schmidt-Mülheim etwa 1μ im Durchmesser aufweisen und in Rosenkranzketten von 15 und mehr Gliedern vorkommen sollen, habe ich in keiner einzigen schleimigen vorher angeführten zuckerhältigen Flüssigkeit constatiren können.

Dass wir beim Schleimigwerden der saccharosehältigen Flüssigkeiten als Erreger nur mit dem besagten Bacillus zu thun haben, wurde auch durch nachstehend angeführte Wechselimpfungen bewiesen.

So wurde eine die nöthigen Mineralstoffe und Pepton enthaltende Saccharose-Lösung mit schleimigen Rübensaft, ein frisch bereiteter Zuckerrübensaft mit schleimigen Zwiebelsaft, frisch bereiteter Zwiebelsaft mit einer schleimigen mit einer Reisabkochung versetzten Saccharose-Lösung u. s. w. geimpft und in allen Fällen trat ausnahmslos binnen 12 bis 24 Stunden die schleimige Gärung ein.

Dies dürfte wohl als genügender Beweis dienen, dass in allen saccharosehältigen Flüssigkeiten einzig und allein nur der besagte Bacillus die schleimige Gärung hervorrufen kann. Daher erübrigte es nur noch, sein Verhalten gegen verschiedene feste Nährböden festzustellen und zu untersuchen, wie sich derselbe gegenüber dem Sauerstoffe verhält.

¹ Bull. de la soc. chim. 1861, S. 30.

² Pflüger's Arch. 1882. Band 27, S. 490.

Als feste Nährböden sind nebst den vorher erwähnten Möhrenscheiben die „Kartoffel“, „Agar-Agar“ und „Gelatine“ benützt worden.

Ohne dass wir uns in weitere Details einlassen, erlaube ich mir anzuführen, dass die in üblicher Weise ausgeführten „Kartoffel-Culturen“ in allen Fällen sehr gut ausfielen. Der genannte Bacillus auf Kartoffelscheiben gezüchtet, bildete auf denselben einen schmutzig weissen und schleimigen Beschlag, welche Veränderung der Kartoffelschnitte schon nach 12 Stunden eintrat.

Die Ausführung von Culturen auf Agar-Platten war mit grösseren Schwierigkeiten verbunden; denn in zehn Fällen, in welchen reines Agar-Agar in der üblichen Weise geimpft und sodann auf die Platte ausgegossen worden ist, haben sich nur in einem Falle Colonien entwickelt. Und dies scheinbar nur deshalb, weil bei der Impfung zwei Platin-osen voll Schleimes in Agar-Agar übertragen wurden. Mit diesem Schleime ist aber gewiss auch etwas Saccharose in Agar übertragen worden. Diese geringe Menge von Saccharose dem Agar beigemischt, schien schon genügend für die Entwicklung der Colonien gewesen zu sein.

Es lag daher die Vermuthung nahe, dass sich dieser Bacillus in Agar-Agar nur dann entwickeln könne, wenn demselben geringe Mengen Saccharose beigemengt werden. Dies bestätigten nun folgende Versuche: Es wurden vier Reagensgläser mit Agar-Agar genommen, davon wurde dem einen etwas zuckerhaltiges Gerstenwasser (circa ein Fünftel der Agar-Menge), dem zweiten zuckerhaltiges Reiswasser, dem dritten eine geringe Menge reiner Saccharose-Lösung und dem vierten circa 10 Tropfen frisch bereiteten Mohrensaftes zugesetzt. Die vier Reagensgläser wurden sonach durch eine Stunde sterilisirt, die Flüssigkeit gut durchgeschüttelt, sonach mit einer Kartoffel-Cultur des genannten Bacillus geimpft und auf die Platten ausgegossen. Nach 24 bis 36 Stunden entwickelten sich auf allen vier Platten Colonien des genannten Bacillus. Die Colonien treten als weisse Trübungen von elliptischer Form, deren Enden leicht zugespitzt erscheinen und mit einem Hofe umgeben sind, auf.

Stich-Culturen in Agar-Agar zeigen dem Canale entlang schmutzigweisse und flockige Ballen, und an der Oberfläche um die Stichöffnung einen bräunlichgelben Belag.

Auch auf Gelatineplatten konnte der Bacillus nur dann cultivirt werden, wenn demselben vorher eine geringe Menge Saccharose-Lösung, zuckerhaltigen Reisswassers oder frisch bereiteten Möhrensaftes zugesetzt worden ist. Eine Colonienbildung fand nie statt, sondern es entstand in der Gelatine eine Anzahl weisslicher Punkte; späterhin wurde dieselbe weiss getrübt und zerfloss.

Dieser Bacillus hat somit die Eigenschaft, Gelatine zu zersetzen und sie zu verflüssigen.

Stichculturen in saccharosehaltiger Gelatine bildeten dem Stichcanale entlang ballenartige Trübungen, die in ihrer Entwicklung so lange fortschritten, bis sich die ganze Gelatine trübte und schliesslich zerfloss.

Behufs Prüfung des Verhaltens des Bacillus gegenüber dem Sauerstoffe wurde folgender Versuch angestellt:

Vier Reagensgläser wurden mit pepton- und mineralstoffhaltiger 10procentiger Saccharose-Lösung bis zu zwei Drittel gefüllt, mit Watte verschlossen, gut sterilisirt und mit Kartoffel-Culturen geimpft. Nach erfolgter Impfung wurde auf jede Saccharose-Lösung eine 2 bis 3 cm hohe Schichte gut sterilisirten, reinen Olivenöls gegossen und so dem Sauerstoffe der Luft der Zutritt versperrt.

Nach 24 bis 36 Stunden trat in allen vier Reagensgläsern die schleimige Gährung ein, und zwar mit dem einzigen Unterschiede, dass die Schleimbildung nicht so rapid vor sich ging, wie bei Sauerstoffzutritt. Dieser Bacillus gehört somit zu den facultativ aëroben Bacterien.

Hiebei sei schliesslich noch bemerkt, dass er in der Cohn'schen Nährlösung nicht gedeiht, wohl aber in seinem eigenen Schleime. Füllt man den von ihm erzeugten Schleim mit Alkohol, wäscht ihn gut mit Wasser aus, trocknet ihn bei 100° C. und löst ihn sodann im kochenden Wasser, insoweit es sich darin lösen kann, auf, versetzt ihn mit den nöthigen Mineralstoffen und etwas Pepton und impft denselben nach vorhergegangener

Sterilisation mit dem besagten Bacillus, so kann man schon nach acht Tagen eine starke Vermehrung desselben in ausserordentlich schön ausgebildeten Stäbchen beobachten.

In dem Vorhergehenden glaube ich diesen Bacillus genügend charakterisirt zu haben, es erübrigt mir nur noch, denselben mit einem passenden Namen zu benennen. Da derselbe vornehmlich nur in saccharosehältigen Flüssigkeiten die schleimige Gährung (Schleimbildung) hervorrufen kann (in Glykose bildet er keinen Schleim), erlaube ich mir denselben mit dem Namen „*Bacillus viscosus sacchari*“ zu belegen. Der Eingangs erwähnte *Micrococcus viscosus* Bechamp existirt meiner Meinung überhaupt nicht, sondern dürfte nur synonym mit meinem *Bacillus viscosus sacchari* sein. Wenn nun Pasteur, Bechamp und Andere in schleimigen zuckerhaltigen Flüssigkeiten nur Kugel-Bakterien, also einen Mikrooccus gefunden haben wollen, so ist dies leicht zu entschuldigen, denn die diesbezüglichen Untersuchungen sind von denselben noch in einer Zeit ausgeführt worden, in welcher von der Bakterien-Forschung, wie sie heute ausgebildet ist, keine Rede sein konnte. Unter solchen Verhältnissen war es leicht möglich, etwas kürzere Stäbchen Bakterien für Kugel-Bakterien zu halten.

Nun gehen wir zur schleimigen Gährung des Weines (vin filant) über.

Nach Pasteur soll es zweierlei Organismen geben, welche im Weine die schleimige Gährung hervorrufen sollen, und zwar kleine in Rosenkranzreihen geordnete Kokken, und zweitens unregelmässig gestaltete Zellen von etwas betrachtlicherer Grösse als es der *Saccharomyces cerevisiae* ist und nach der Pasteur'schen Beschreibung von gänzlich unklaren morphologischen Eigenschaften als zu den Bacterien kaum zu rechnen sind. Auch Bersch¹ will im zähen Weine neben winzig kleinen, runden Zellen andere von drei- bis viermal grösserem Durchmesser als es jene sind, beobachtet haben. Nesler², welcher das Zahwerden des Weines seinerzeit eingehend studirt hat, behauptet sogar, dass die von Pasteur beschriebenen rosenkranzformigen

¹ Die Krankheiten des Weines. Wien, 1873, S. 52.

² Die Bereitung und Behandlung des Weines, 1884, S. 228.

Schnüre in zähe werdenden Flüssigkeiten oft gar nicht, oft nur in verhältnissmässig kleiner Menge vorkommen. Überall soll man aber in solchen Flüssigkeiten unzählige runde, sich bewegende Körperchen, die so klein sein sollen, dass sie bei 500facher Vergrösserung nur als Punkte erscheinen, antreffen. Aus dem Gesagten ist es wohl ersichtlich, welche verschiedenen Ansichten über die im Weine das Zähewerden verursachenden Mikro-Organismen herrschen.

Ich habe bereits erwähnt, dass es mir in keinem einzigen Falle gelungen ist, junge Weissweine durch Impfung mit dem *Bacillus viscosus sacchari* schleimig zu machen. Der Grund, wie bemerkt worden ist, liegt einfach darin, dass der *Bacillus viscosus sacchari* nur Saccharose-Lösung bei neutraler oder schwach alkalischer Reaction schleimig machen kann. Sauere Nährböden verträgt er absolut nicht und ebensowenig auch den Wein als Nährboden. Eine ähnliche Beobachtung scheint auch Nessler gemacht, aber nicht richtig interpretirt zu haben. In seinem vorher citirten Werke sagt er auf Seite 230 in der Anmerkung wörtlich: „Rohrzucker und Traubenzucker sind in dieser Beziehung wesentlich verschieden; Rohrzucker wird in neutraler Lösung unter obigen Verhältnissen sehr bald zähe; der sich bildende Schleim wird durch Weingeist als eine zähe Masse herausgefällt. Traubenzucker wird in neutraler Lösung nicht zum Schleim. Geht in saurerer Lösung der Traubenzucker in Schleim (wie beim Wein) über (es scheinen zwei verschiedene Pflänzchen wirksam zu sein), so wird der letztere entweder überhaupt nicht oder doch nicht als zähe Masse durch Weingeist ausgefällt.“

Es unterliegt daher keinem Zweifel, dass wir im zähen Wein nicht mit einem specifischen, das Schleimigwerden bedingenden Mikro-Organismus zu thun hätten. Es ist mir gelungen, in den Besitz dreier schleimiger Weissweine verschiedener Provenienz zu gelangen. Dieselben habe ich einer eingehenden mikroskopischen Untersuchung unterzogen. Ich habe nämlich von einer jeden der drei Weinsorten eine grössere Anzahl mit Gentiana-Violett tingirter, in Canada-Balsam eingelegter mikroskopischer Präparate hergestellt und sie mit dem Zeiss'schen Mikroskope (Apochromat, 2.0mm Brennweite, Ocul. 4) bei Abbé'scher Beleuchtung untersucht. Das Resultat war nun folgendes: In jedem

der Präparate, mögen sie von dem einem oder dem anderen zähen Weine hergestellt worden sein, sind nachstehende Mikro-Organismen beobachtet worden, und zwar:

1. Ziemlich dünne und dabei verhältnissmässig lange Stäbchen-Bakterien. Dieselben hatten eine Länge, die zwischen 2 bis 6 μ variierte und eine Dicke von 0.60 bis 0.80 μ . Dabei bildeten sie sehr oft Scheinketten bis zu einer Länge von 14 μ , ohne dass in denselben ein einziges Glied eine Trennung von den anderen zeigte. In anderen Fällen konnten wieder die Kettenglieder, wenn sie auch noch im Zusammenhange standen, deutlich unterschieden werden. Die Glieder dieser Ketten hatten jedoch stets eine sehr verschiedene Länge. So fand ich beispielsweise Ketten, bei denen die einzelnen Glieder folgende Längenmasse besaßen: Das erste Glied hatte eine Länge von 2, das zweite von 4, das dritte von 6, das vierte und fünfte wieder von je 2 μ . Die beiden Endglieder fand ich in den meisten Fällen die kürzesten, vielleicht ist dies auf Arthrosporenbildung zurückzuführen. Im hängenden Tropfen zeigen sie keine Eigenbewegung, wohl aber eine Molecularbewegung. Im zähen Wein kommen diese Bacillen in so grosser Menge vor, dass man schon aus der einfachen mikroskopischen Untersuchung zäher Weine in ihnen den eigentlichen Erreger der schleimigen Gährung vermuthen könnte. Lässt man zähen Wein einige Zeit stehen, so bildet er einen Bodensatz, welcher aus Schleim besteht. Untersucht man diesen Schleim, so findet man in demselben ebenfalls eine grosse Menge obgenannter Bacillen.

2. Nebst diesem Bacillus sind, wie leicht begreiflich, in jedem zähen Wein *Saccharomyces ellipsoideus*, in kleinen Mengen *Saccharomyces mycoderma* und *Mycoderma aceti*, sowie Bakterien, die höchst wahrscheinlich auf den *Bacillus acidi lactici* zurückzuführen sind, vorgefunden worden.

3. Ausserdem enthielt jeder zähe Wein eine grosse Menge kleiner runder Kügelchen von der verschiedenartigsten Grösse. Diese ausserordentlich grosse Verschiedenheit in der Grösse dieser Kügelchen liess jedoch keinen Zweifel zu, dass man hier mit keinen Mikro-Organismen, sondern nur mit Detritus zu thun habe. Sie sind einfach an den Gehalt eines jeden Weines an Eiweissstoffen, Tannin u. s. w. zurückzuführen. Nicht selten setzen

sich diese Detritus-Kügelchen an die Ketten des obgenannten Bacillus zu beiden Seiten an und erhalten so bei mehr weniger flüchtiger Beobachtung dieselben das Aussehen von Kokkenketten.

Nachdem die Vermuthung auf Grund dieser mikroskopischen Untersuchung so nahe lag, dass nur der obgenannte Bacillus die schleimige Gährung im Weine hervorrufen könnte, trat in erster Linie die Nothwendigkeit heran, denselben in Reinculturen zu erhalten. Diess wollte jedoch nicht ganz gelingen.

Auf Kartoffeln konnte derselbe nicht zur Entwicklung und Vermehrung gebracht werden und alle zahlreichen Versuche auf Agar-Agar und Gelatine als Stich- und Plattenculturen blieben erfolglos. Auf Gelatine und Agar blieben die Culturversuche auch dann resultatlos, wenn diesen Nährböden Glykose und Weinsäure beigemischt wurde. Auch in der Cohn'schen Nährlösung entwickelte sich derselbe nicht. Auf den mit zähem Wein geimpften Plattenculturen entwickelten sich aber stets *Saccharomyces ellipsoideus*, *Saccharomyces mycoderma*, *Penicillium glaucum*, *Mucor* u. dgl., was nicht zu wundern ist, da ja diese Mikro-Organismen fast in einem jeden Wein vorkommen. Um nun zu halbwegs reinen Culturen zu gelangen, wurde folgender Ausweg gefunden:

Junger Weisswein (erst 1 Monat alt), welcher auf Grund einer Bestimmung noch 3% Traubenzucker enthielt und noch trübe war, daher ihm an Eiweissstoffen nicht mangelte, wurde in sechs Erlenmeier'sche Kölbchen gefüllt, mit Watte verschlossen und fractionirt sterilisirt. Die fractionirte Sterilisation wurde aus dem Grunde angewendet, damit der Wein nach derselben womöglichst seine frühere, natürliche Eigenschaft beibehalte. Die sechs Erlenmeier'schen Kölbchen wurden nun einfach mit dem zähen Weine geimpft. Hievon wurden 2 Kölbchen nur mit Watte, 2 mit Watte und Korkstopfen und die weiteren 2 mit einer 2 cm hohen Schichte sterilisirten Öls bedeckt und mit Watte verschlossen. Die Resultate dieser Impfungen waren folgende: In den beiden ersten nur mit Watte verschlossenen Kölbchen trat schon nach Verlauf einiger Tage die alkoholische Gährung ein, es sind nämlich zweifellos durch die Impfung mit dem zähen Weine einige *Saccharomyceten* in dieselben übertragen worden.

Das Schleimigwerden trat jedoch in denselben selbst nach einem sechswöchentlichen Stehen nicht ein. In den mit Watte und Korkstopfen verschlossenen Kölbchen konnte das Auftreten der Alkoholgahrung nicht beobachtet werden, wohl iberdeckte sich aber die Oberfläche des Weines mit einem Häutchen (der Kahlhaut), welches späterhin als *Saccharomyces mycoderma* (*Mycoderma vini*) constatirt wurde. Hierbei blieb der Wein klar und war nach Verlauf von sechs Wochen schwach schleimig. Die mit Öl bedeckten Weine hingegen zeigten äusserlich keine Veränderung, die anfängliche Trübung legte sich nach und nach zu Boden und sie blieben nach sechswochentlichem Stehen im Zimmer bei einer Temperatur von 18° bis 23° C. vollkommen klar. Beim Öffnen und Ausgiessen zeigten sie sich derart schleimig, dass sie sich in Fäden bis zu 2 dm Länge zogen.

Diese Weine wurden nun mikroskopisch untersucht. In den beiden ersten Kölbchen (nur Watteverschluss), die nicht zähe wurden, konnten nur Spuren der obgenannten Bacillen entdeckt werden. In den weiteren beiden Kölbchen (Korkstopfen-Verschluss) traten die besagten Bacillen stark auf; die genannten Weine waren auch schwach schleimig. In den dritten beiden Kölbchen (Öl-Verschluss), in denen der Wein stark schleimig wurde, traten die besagten Bacillen sehr stark auf, von anderen Mikro-Organismen konnten nur Spuren constatirt werden. Kein Zweifel somit, dass dieser Bacillus nicht der eigentliche und spezifische Erreger der schleimigen Gährung im Weine wäre. Mit diesen nahezu reinen Culturen wurden noch verschiedene andere Weine geimpft und alle wurden nach Verlauf von 4 bis 8 Wochen zähe.

Aus den obangefuhrten Versuchen geht weiters hervor, dass dieser Bacillus zu den anaeroben Bakterien gehört; denn bei freiem Luftzutritt ist es in keinem einzigen Falle gelungen, das Zahwerden des Weines hervorzurufen. Diese Thatsache wird auch dadurch bestätigt, dass im Falle, wenn man zähen Wein einige Male aus einem Kölbchen in das andere ibergiesst, den zähen Wein somit gut durchlüftet und dann einige Tage stehen lässt, der Wein wieder dünnflüssig wird, wobei sich der Schleim am Boden abgesetzt hat.

Im Schleim findet man sodann den grössten Theil des obgenannten Bacillus, während im klaren Weine nur Spuren davon zu finden sind. Durch den Sauerstoffzutritt scheinen diese Bacillen thatsächlich getödtet zu werden. Ich habe mit einem solchen circa 8 Tage alten Bodensatze eine weinsauere Glykose-Lösung, die neben Pepton auch die nöthigen Mineralstoffe enthielt, geimpft, aber die Impfversuche blieben resultatlos; während in gleicher Weise zusammengesetzte und mit zähen Wein geimpfte Glykose-Lösungen zu befriedigenden Resultaten führten. In denselben vermehrte sich der genannte Bacillus ziemlich stark. Diese Thatsache steht somit auch mit der praktischen Erfahrung im Einklange, dass nur junge in Flaschen gefüllte und gut verkorkte oder in Fässern gut verschlossene Weissweine zähe werden können und dass das Zähesein sogleich verschwindet, wenn man dieselben durch „Überziehen“ mit der Luft ordentlich in Berührung gebracht hat.

Schliesslich sei noch bemerkt, dass der genannte Bacillus sich in weinsauren Saccharose-Lösungen (nicht in neutralen oder schwach alkalischen) vermehren kann, ohne Schleim zu bilden. Nicht jedoch in Mannit- und Milchzucker-Lösungen; auch in der Milch ist er nicht im Stande, das Schleimigwerden hervorzurufen.

Daraus dürfte zweifelsohne einleuchtend sein, dass dieser Bacillus in Allem und Jedem vom „*Bacillus viscosus sacchari* Kramer“ verschieden ist. Nachdem er, soweit meine Untersuchungen reichen, nur im Weine das Schleimigwerden verursachen kann, erlaube ich mir selben zum Unterschiede vom ersteren mit dem Namen „*Bacillus viscosus vini*“ zu bezeichnen. Dass derselbe nur in jungen, nicht in alten Weissweinen sich vermehren kann, ist auf den verhältnissmässig grossen Eiweissgehalt junger Weine zurückzuführen. Sein Temperatur-Optimum scheint bei 15 bis 18° C. zu liegen. Eine Erhöhung der Temperatur über 30° C. wirkt ungünstig (vielleicht tödtlich) auf denselben; daher verlieren zähe Weine durch Erwärmen über 30° C. sehr leicht ihre schleimige Beschaffenheit.

Nun erübrigt uns noch über das Schleimigwerden der Milch einige Worte zu sagen.

Nach Schmidt-Mulheim¹ soll das Schleimigwerden der Milch (sogenannte fadenziehende Milch) durch den schon Eingang erwähnten *Micrococcus viscosus* verursacht werden. Ob diess thatsächlich der Fall ist, konnte ich aus dem Grunde nicht constatiren, da ich nach zahlreichen Versuchen zu einer schleimigen Milch nicht gelangen konnte. Soviel kann ich jedoch mit Bestimmtheit constatiren, dass weder der *Bacillus viscosus sacchari* noch der *Bacillus viscosus vini* ein Schleimigwerden der Milch unter keiner Bedingung hervorrufen kann; denn alle Impfversuche der Milch mit diesen beiden Bacillen schlugen fehl. Ja noch mehr, es konnte weder der Milchzucker in saurerer, noch in neutraler Lösung weder von dem Einen, noch vom Andern schleimig gemacht werden. Der Milchzucker ist aber zweifelsohne der einzige Bestandtheil der Milch, welcher einer solchen Veränderung unterliegen könnte. Schmidt-Mülheim behauptet weiters, dass der *Micrococcus* der fadenziehenden Milch eventuell auch Mannit schleimig machen könne. Diese Umänderung des Mannits kann aber auch weder der *Bacillus viscosus sacchari* noch der *Bacillus viscosus vini* verursachen. Daraus geht mit Bestimmtheit hervor, dass das Schleimigwerden der Milch ein ganz spezifischer Mikro-Organismus, der von den vorher angefuhrten beiden Bacillen grundverschieden sein muss, verursachen kann.

Es erübrigt uns noch, zwei Fragen zu beantworten, und zwar:

1. Kann der gebildete Schleim als ein Product der Gährung, in welche die Nährlösung durch die genannten Bacillen versetzt wird, oder aber als ein Product der Assimilation des Gahrungserregers angesehen werden?

2. Was für Eigenschaften hat der Schleim in chemischer Beziehung?

Bezüglich der ersten Frage geht meine Ansicht dahin, dass die Schleimbildung auf eine Verschleimung der Bakterien-Membranen, somit auf einen Assimilationsprocess des Gahrungserregers zuruckzufuhrten sein dürfte. Diess schliesse ich aus folgenden Thatsachen:

a) Im hängenden Tropfen beobachtet, erscheint der *Bacillus viscosus sacchari* thatsächlich mit einem Hofe umgeben,

¹ Pflüger's Archiv 1882. Bd. 27, S. 490.

was vielleicht auf eine Quellung der äusseren Schichten der Membranen zurückzuführen sein dürfte.

- b) Der aus einer zähen Saccharose-Lösung zu Boden fallende Schleim ist derart zusammenhängend, dass er sich in klebrige Fäden ausziehen lässt. Unter dem Mikroskope erscheint der Schleim nur aus Bacillen bestehend (Zoogloeen bildend), die nur schwach durch eine lichtbrechendere, Gentiana-Violet nicht aufnehmende Substanz von einander getrennt werden. Sollte diess nicht etwa die gequollene, respective in Schleim umgewandelte Membran sein? Was könnte sonst so fest die Bacillen zusammenhalten?
- c) Bei der schleimigen Gährung treten nebst Bildung von Schleim auch Kohlensäure und Mannit auf. Würde das Schleimigwerden auf einen Gährungsprocess zurückzuführen sein, dann müsste die Menge des gebildeten Schleimes zu jener des dabei erzeugten Mannits und der Kohlensäure in einem mehr weniger constanten Verhältnisse stehen, wie etwa Pasteur angibt, dass aus 100 Gewichtstheilen Zucker 45.50 Theile Schleim, 51.09 Theile Mannit und 6.18 Theile Kohlensäure entstehen sollen. Diess ist jedoch auf Grund meiner Untersuchungen nicht der Fall; denn es bildet sich sehr häufig beim Auftreten grosser Mengen von Schleim verhältnissmässig wenig Mannit und noch weniger Kohlensäure. Oft ist beim starken Schleimigwerden die Bildung von CO_2 derart gering, dass ihre Entwicklung kaum bemerkt werden kann. Es hat thatsächlich den Anschein, als ob die Schleimbildung als ein Product der Assimilation, die Bildung von CO_2 und Mannit als ein Product der Gährung aufzufassen wäre.
- d) Hiefür spricht auch der Umstand, dass der *Bacillus viscosus sacchari* sich in seinem, d. i. in dem von ihm selbst gebildeten Schleime stark vermehren kann; ob er denselben sodann in CO_2 und Mannit spaltet, konnte ich noch nicht genau feststellen.

Die hiefür angeführten Thatsachen, wenn sie nun richtig interpretirt sind, dürften hiefür sprechen, dass die Schleimbildung nur als ein Product der Assimilation des Nährbodens durch den Gährungserreger aufzufassen ist.

Die Bildung von Kohlensäure und Mannit sind als Producte der Gährung, respective der inneren Athmung der vorher genannten Bakterien anzusehen.

Es fragt sich nun, wie sich die Bildung von Mannit als Product der inneren Athmung von Bakterien erklärt. Meiner Ansicht nach ist die Bildung desselben nicht als ein primäres, sondern als ein secundäres Product dieser inneren Athmung aufzufassen. Als primäre Producte desselben wären nur die Kohlensäure und der Wasserstoff anzusehen. Der dabei freiwerdende Wasserstoff verbindet sich sodann direct mit der Glykose (Dextrose) zu Mannit, welcher Process bekanntlich sehr leicht vor sich geht, da eben die Dextrose nur das Aldehyd des Mannits ist. In Saccharose-Lösungen dürfte die Saccharose vielleicht nach der Inversion durch ein Ferment der Bakterien in Glykose (Dextrose) umgewandelt werden. Die Bildung von Wasserstoff konnte ich auf Grund mehrerer Versuche direct nicht feststellen, was auch leicht erklärlich ist, da sich derselbe gewiss sogleich mit der Glykose zu Mannit verbinden dürfte. Diess wäre für die Bildung des Mannits gewiss die einfachste und natürlichste Erklärung. Dieselbe stimmt auch mit den Untersuchungen von Schmidt-Mülheim über das Zähewerden der Milch überein, welcher angibt, dass bei diesem Prozesse kein Mannit entsteht, was leicht erklärlich ist, da bekanntlich Milchzucker durch naschenden Wasserstoff nicht in Mannit umgewandelt werden kann.

Es bliebe somit noch die zweite Frage zu beantworten, nämlich: Was für Eigenschaften besitzt der Schleim in chemischer Hinsicht?

Hiebei erlaube ich mir im vorhinein zu bemerken, dass ich nur den beim Schleimigwerden der Saccharose-Lösungen gebildeten Schleim näher studirt habe.

Zu diesem Behufe bereitete ich mir einen Liter einer zehnpotentigen Saccharose-Lösung, welcher ich sonst nichts Anderes, als 4 g Pepton (0.4%) und circa 60 Tropfen einer normalen Lösung von $\text{PO}_4\text{Na}_2\text{H}$ zusetzte. Die Lösung wurde unter Watteverschluss gut sterilisirt und sodann mit einigen Tropfen einer Reincultur von *Bacillus viscosus sacchari* versetzt. Nach Verlauf von 12 Stunden trat im Kolben die schleimige Gährung ein und binnen acht Tagen wurde die Flüssigkeit in einen dicken, weissen, kleister-

artigen Schleim umgewandelt. Der Schleim wurde mit Alkohol gefällt und auf dem Filter gesammelt. Vom Filter wurde derselbe in kochendes destillirtes Wasser gebracht, in dem er sich wieder kleisterartig vertheilte, woraus er wieder mit Alkohol gefällt und sodann abfiltrirt wurde. Dieser so gewonnene Schleim stellte eine weisse, elastische und fadenziehende Masse dar. Bei 100° C. getrocknet erhält man ihn als einen weissen, hyalinen und amorphen Körper. Im Wasser quillt er kleisterartig auf, gelöst werden jedoch nur ganz geringe Mengen (etwa 0·5 %), die wässrige Lösung davon ist indifferent gegen Lakmus und schmeckt fade.

Zur Ermittlung der chemischen Zusammensetzung wurde ein Theil des Schleimes bei 120° C. getrocknet und sonach der Elementar-Analyse unterzogen. Bei drei Verbrennungen lieferte der Schleim folgende Resultate:

I.	II.	III.	Mittel
C = 43·89	43·99	44·30	44·04
H = 6·20	6·12	6·14	6·15
O = 49·91	40·89	49·44	49·74

Diese Zahlen entsprechen nahezu genau der Formel $C_6H_{10}O_5$, welche verlangt:

$$\begin{aligned} C &= 44\cdot43 \\ H &= 6\cdot18 \\ O &= 49\cdot39 \end{aligned}$$

Gegen verschiedene Reagentien zeigt dieser Schleim folgendes Verhalten:

Von Alkalien (KOH und NaOH) wird er unter Gelbfärbung gelöst. Er scheint mit denselben chemische Verbindungen einzugehen; denn wenn man eine solche Lösung mit Alkohol versetzt, so scheidet sich daraus ein weisser Niederschlag aus, welcher am Filter gesammelt ein schneeartig schuppiges, nicht zähes Aussehen besitzt. Wäscht man diesen Niederschlag mit verdünntem Alkohol gut aus, trocknet denselben und verbrennt ihn, so bleibt das betreffende Alkali als Asche zurück. Ein Beweis, dass es mit dem Schleim eine Verbindung eingegangen ist.

Mit Barytwasser gibt eine wässerige Lösung einen weissen, voluminösen Niederschlag, welcher zweifelsohne als eine Baryt-Verbindung des Schleimes anzusehen ist.

Basisch essigsauerer Blei bringt in halbwegs concentrirten Lösungen einen voluminösen Niederschlag hervor. Durch alkalische Kupferlösungen wird derselbe als hellblauer, sich zusammenballender Niederschlag gefällt.

Durch längeres Kochen mit verdünnter Schwefelsäure wird der Schleim in eine Art Zucker umgewandelt (Traubenzucker?), welcher die Fehling'sche Lösung reducirt. Sonst wird die Fehling'sche Lösung von ganz normalen Lösungen des Schleimes nicht reducirt, sondern sie verhält sich indifferent. Interessant ist das optische Drehungsvermögen des Schleimes. Behufs Bestimmung der specifischen Rotation habe ich eine unbestimmte Menge des Schleimes im kochenden destillirten Wasser, so viel es gehen konnte, zur Lösung gebracht und den nicht gelösten Theil abfiltrirt. Diese Lösung habe ich sodann mit dem Wild'schen Polarisirungs-Apparate in einem 10 *cm* langen Polarisations-Rohre polarisirt und nebstdem mit Hilfe eines Piknometers das specifische Gewicht der Flüssigkeit und durch Abdampfen in einer Platinschale auf dem Wasserbade und nachheriges Trocknen bei 120° C. die procentische Menge des im Wasser gelösten Schleimes bestimmt. Das specifische Drehungsvermögen α_D wurde sodann nach der Formel berechnet:

$$\alpha_D = \frac{100 \cdot a}{l \cdot p \cdot d}.$$

Wobei a den für einen bestimmten Strahl beobachteten Ablenkungswinkel, l die Länge des Polarisations-Rohres, p den Procentgehalt und d das specifische Gewicht bedeutet. Ich fand als Durchschnittszahl bei zwei Polarisationen

$$\alpha_D = +195^\circ.$$

In Salpetersäure, sowohl verdünnter als concentrirter, löst sich der Schleim sehr leicht auf. Bei Behandlung mit concentrirter Salpetersäure entwickelt sich dabei in grossen Mengen Stickstofftrioxyd; aber die Bildung einer Nitroverbindung habe ich dabei nicht beobachten können. Vielmehr entsteht dabei

Oxalsäure. Die Bildung der Schleimsäure bei Oxydation des Schleimes durch Salpetersäure konnte ich in keinem einzigen Falle beobachten. Jod hat keine Einwirkung auf denselben.

Interessant ist noch das nachstehende Verhalten dieses Schleimes:

Kocht man denselben mit Kali oder Natronlauge, so löst er sich unter Gelbfärbung auf und geht mit dem Alkali eine lösliche Verbindung ein, welche mit Alkohol als weisser feinschuppiger Niederschlag gefällt wird. Löst man diesen Niederschlag in kochendem Wasser auf und fällt ihn sodann mit Alkohol aus, so erhält man wieder einen weissen, klebrigen Körper, welcher dem ursprünglichen Schleime stark ähnlich ist. Auf Grund zweier Verbrennungen zeigt er eine chemische Zusammensetzung wie der erstere, nämlich $C_6H_{10}O_5$. Dieser Körper zeigt alle oben angeführten Reactionen des ersteren, mit Ausnahme einer, nämlich, der ursprüngliche Schleim quillt im Wasser nur auf und ist wenig darin löslich, während dieser Schleim im Wasser leicht löslich ist. Es scheint daher der Schleim zwei Modificationen, nämlich eine in Wasser leicht und eine schwer (respective nicht) lösliche zu besitzen. Ein Verhalten, welches ähnlich sein dürfte jenem der Metarabinsäure zur Arabinsäure.

III.

In diesem Capitel erlaube ich mir die Resultate der vorher angeführten Versuche auf das kürzeste zusammenzufassen.

1. Unter „schleimiger Gährung“ versteht man jenen Vorgang, bei welchem unter gewissen Umständen Flüssigkeiten, welche Zucker (Saccharose, Glycose, Lactose u. s. w.), sowie auch Lösungen anderweitiger Kohlehydrate (Mannit, Stärke, Schleim), die die nöthige Menge von Eiweiss-Substanzen und Mineralstoffen (phosphorsaures Kali oder Natrium ist dabei unbedingt nothwendig) enthalten, in einen schleimigen Zustand übergehen. Nebst diesem Schleime, welcher ein Kohlehydrat von der Formel $C_6H_{10}O_5$ ist, tritt stets Mannit und Kohlensäure in grösseren oder geringeren Mengen auf. Nur bei der schleimigen Milch kann dies noch nicht mit Bestimmtheit behauptet werden.

2. Das zeitweise Auftreten von Milchsäure, Buttersäure und freiem Wasserstoffgas u. s. w. in schleimigen Flüssigkeiten hat

mit der schleimigen Gährung nichts zu thun. Dieselben sind auf andere parallel verlaufende Gahrungsprocesse nicht reiner Culturen zurückzuführen.

3. Die schleimige Gährung wird durch Mikro-Organismen hervorgerufen. Dieselben gehören den Bakterien an. Gegenwärtig wird als Erreger der schleimigen Gährung der sogenannte *Mikrococcus viscosus* angesehen. Dies ist jedoch unrichtig; denn der Pasteur'sche *Micrococcus viscosus*, wie derselbe zur Zeit beschrieben wird, existirt überhaupt nicht. Das Schleimigwerden kann ja nach der Qualität der zuckerhaltigen Flüssigkeit von mehreren, mindestens aber von drei specifischen, von einander gänzlich verschiedenen Mikro-Organismen verursacht werden. Auf dieselben werden wir späterhin zu sprechen kommen.

4. Die auf Zuckerrubenscheiben und auch im Zuckerrubensaft auftretenden und von *Leuconostoc mesenterioides* Prazmowsky, von *Ascococcus Billrothii* Cohn oder von *Bacillus Polymyxa* Prazmowsky hervorgerufenen Gallertbildungen knorpeliger Constistenz können, da hiebei eine Schleimbildung nicht auftritt, nicht als Erscheinungen der schleimigen Gährung angesehen werden.

5. Die kohlehydrathaltigen Flüssigkeiten können nach der Natur ihres Schleimigwerdens in drei Gruppen eingetheilt werden, und zwar:

- a) Zur ersten Gruppe gehören alle saccharosehältigen Flüssigkeiten, so lange sie eine neutrale oder schwach alkalische Reaction besitzen. Dabei müssen sie stets Eiweissstoffe und Salze in einer bestimmten Menge enthalten. Hieher gehören: Lösungen von Saccharose mit Eiweisssubstanzen und Mineralstoffen. Abkochungen von Gerste, Reis, Weizen u. s. w., denen Saccharose zugesetzt worden ist. Ferner der Saft der Möhren, Zuckerrüben, Zwiebeln u. dgl. Das in schleimige Gährung übergehende Kohlehydrat ist hiebei die Saccharose. In diesen Lösungen wird das Schleimigwerden durch den *Bacillus viscosus sacchari* Kramer verursacht.
- b) Zur zweiten Gruppe gehören saure, die nöthigen Eiweiss- und Mineralsubstanzen enthaltende Glykose-Lösungen. Als Haupt-Représentant dieser Gruppe ist der Wein anzusehen. Das Schleimig- oder Zähewerden dieser Flüssigkeiten

wird durch den *Bacillus viscosus vini* Kramer hervorgerufen.

- c) Zur dritten Gruppe sind neutrale, schwach alkalische oder sehr schwach saure, die nöthigen Eiweiss- und Mineral-Substanzen enthaltenden Lösungen des Milchzuckers zu rechnen. Als Haupt-Repräsentant dieser Flüssigkeiten ist die Milch zu betrachten. Nach Schmidt-Mülheim gehören auch Mannitlösungen hieher. Dieses Schleimigwerden muss ein ganz spezifischer Mikro-Organismus verursachen; denn keiner von den Vorigen kann weder in Milchzucker- und Mannit-Lösungen, noch in der Milch die schleimige Gährung hervorrufen. Denselben habe ich nicht Gelegenheit gehabt zu studiren. Nach Schmidt-Mülheim soll es ein Coccus sein von $1\ \mu$ Durchmesser. Auch soll sich bei der schleimigen Milch nach Schmidt-Mülheim nur Schleim ohne Mannit und CO_2 bilden.

6. Der *Bacillus viscosus sacchari* Kramer bildet $1\ \mu$ dicke und 2.5 bis $4\ \mu$ lange, an den Ecken schwach abgerundete Stäbchen, die oft Ketten zu 50 Gliedern aufweisen. Derselbe zeigt keine Eigenbewegung, sondern nur die sogenannte Brown'sche Molecularbewegung. Auf Möhrenscheiben entwickelt er sich zu einem hyalinen Schleim, auf Kartoffeln zu einem schmutzig weissen, zähen Beschlag. Auf Agar und Gelatine bei Zusatz von Saccharose bildet er auf Platten weissliche, länglichrunde Colonien. Gelatine verflüssigt er. In Sticheulturen bildet er dem Stichecanale entlang flockige Ballen. Sein Temperatur-Optimum dürfte bei $22^\circ\ \text{C}$. liegen. Er vermehrt sich nur auf neutralen oder schwach alkalischen Nährböden, auf saueren absolut nicht.

7. Der *Bacillus viscosus vini* Kramer bildet 0.6 bis $0.8\ \mu$ dicke und 2 bis $6\ \mu$ lange Stäbchen und sehr oft bis zu $14\ \mu$ lange Scheinfäden. Er scheint auch Arthrosporen zu entwickeln. Er gehört zu den anaëroben Bakterien, während der vorhergehende facultativ aërob ist. Er kommt absolut nur auf saueren Nährböden vor. Auf festen Nährböden ist es mir noch nicht gelungen, denselben zu züchten, sondern nur in Wein oder saurerer Glykose-Lösung.

8. In der Milch soll nach Schmidt-Mülheim ein Coccus von $1\ \mu$ Durchmesser die schleimige Gährung verursachen. Näheres ist über denselben noch nichts bekannt.

9. Der bei dieser Gährung gebildete Schleim ist nicht als ein Product der Gährung der Nährlösung, sondern als ein Product der Assimilation des Gahrungserregers anzusehen, und zwar dürfte der Schleim als nichts Anderes als gequollene, respective in Schleim umgewandelte äussere Membranschichten aufzufassen sein. Mannit und CO_2 sind als Gahrungsproducte, respective als Producte der innern Athmung aufzufassen.

10. Der bei der schleimigen Gährung sich bildende Mannit ist nicht als ein primäres, sondern als ein secundäres Product der inneren Athmung der obangefuhrten Bakterien anzusehen. Als primäre Producte sind die Kohlensäure und der Wasserstoff zu betrachten, welcher sich im *statu nascendi* mit der vorhandenen Glykose zu Mannit verbindet.

11. Der Schleim ist nicht etwa ein Gummi, sondern ein Kohlehydrat von der Formel $\text{C}_6 \text{H}_{10} \text{O}_5$ und dürfte metamorphosirte Cellulose sein. Derselbe wird durch Alkohol aus den zähen Flüssigkeiten herausgefallt. Er stellt eine weisse, amorphe, fadenziehende Substanz dar, die sich in Wasser nicht löst, sondern nur quillt. Mit Jod wird er nicht gefärbt. Von Alkalien (KOH und NaOH) wird er unter Gelbfärbung gelöst und geht mit denselben chemische Verbindungen ein; diese Verbindungen werden von Alkohol als ein weisser, feinschuppiger Niederschlag gefällt. Derselbe wird von Barytwasser wie auch von basisch-essigsauerem Blei gefällt. Sein specifisches Drehungsvermögen beträgt $\alpha_D = + 195^\circ$.
