[Aus dem hygienischen Institut der Universität Dorpat.]

Studien über die Vertheilung der Bakteriencolonieen in Esmarch'schen Rollröhrchen.

Von

Prof. B. Körber
in Dorpat.

Beim Gebrauch der Esmarch'schen Rollröhrchen zu quantitativen Bestimmungen von Keimen stellten sich einige Uebelstände heraus, die mich veranlassten, das Verfahren bei der Herstellung derselben zu modificiren, und insbesondere durch eine gleichmässigere Vertheilung der Gelatine im Röhrchen zu verbessern.

Lässt man das Röhrchen, wie üblich, im Wasser schwimmen, und dreht dasselbe mit den Fingern so lange um die Längsaxe, bis die Gelatine erstarrt ist, so wird sich letztere nur selten in gleichmässig dicker Lage durch das ganze Röhrchen vertheilt finden. In den meisten Fällen wird die Gelatine am Pfropftheil in dünnerer, im Kuppentheil in dickerer Schicht die Wandung überziehen, denn der mit einer Gummikappe bekleidete Pfropftheil wird mehr aus dem Wasser hervorragen, als der Kuppentheil. Durch einen gelinden Druck auf den Pfropftheil kann man diesen Uebelstand vermindern, doch wird es sich dann wohl auch ereignen, dass sich umgekehrt jetzt im Pfropftheil eine Anhäufung der Gelatine herausstellt, welche ausserdem den Wattepfropf in geringerem oder weiterem Umfange ringförmig überzieht; endlich kommt es vor, falls das Röhrchen während des Rollens abwechselnd bald mehr bald weniger aus der horizontalen Lage gebracht wurde, namentlich nachdem die Gelatine bereits dickflüssig geworden, dass die Gelatine in Form von Bändern, die spiralig das Röhrchen überziehen, erstarrt.

In Folge dieser mannigfachen Modificationen, unter denen die Gelatine erstarrt sein kann, ist die Dicke der Gelatineschicht eine ungleich-

mässige und das Ermitteln der mittleren Zahl von Colonieen in 1^{cem} mit grossem Zeitverlust verbunden. Berücksichtigt man nur den cylindrischen Theil des Röhrchens von dem Wattepfropf bis zum Beginn des Kuppentheiles, so wird durch eine vorläufige Orientirungszählung ganz leicht festzustellen sein, ob sich das Röhrchen während des Rotirens in nahezu horizontaler Lage befunden, oder mit dem Pfropf- bzw. Kuppentheil tiefer in's Wasser hineintauchte und dementsprechend wird man weiter feststellen können, wo etwa gezählt werden muss, um Quadrate mit einer mittleren Coloniezahl zu finden, aus denen ein Generalmittel festgestellt werden kann, durch dessen Multiplication mit der Quadratoberfläche des Röhrchens die Summe aller Colonieen in demselben festgestellt werden kann. Falls nun aber ein nicht unbedeutender Theil der Gelatine am Wattepfropf, bzw. in der Kuppe erstarrt ist, so wird man die Colonieen in diesem Theil des Röhrchens nicht unberücksichtigt lassen können und das Auszählen an diesen Stellen ist keine geringe Geduldsprobe, da man an beiden Theilen erst Hilfslinien ziehen muss, wodurch die Oberfläche in kleinere Felder zerlegt wird, die nun einzeln auszuzählen sind. Durch Rechnung die Menge festzustellen, ist mir nicht gelungen, obgleich ich einige Hundert Kuppen durchgezählt habe. Wie bedeutend aber die Zahl der Colonieen im Pfropf- bzw. Kuppentheil sein kann, ersieht man aus folgendem Beispiel: In zehn gleichzeitig ausgerollten Röhrchen fanden sich durchschnittlich 5400 Colonieen im einzelnen Röhrchen. Im Kuppentheil zählte ich durchschnittlich 630, im Pfropftheil 298 Colonieen, im ersteren schwankte die Zahl zwischen 980 und 210, im letzteren zwischen 530 und 200. Hätte ich diese Zahlen gar nicht berücksichtigt und nur im cylindrischen Theil einzelne Quadrate ausgezählt, so hätte ich sehr grosse Differenzen in der Summe der Colonieen im Röhrchen gefunden.

Ich habe daher folgende Aenderungen beim Ausrollen der Esmarch'schen Rollröhrchen vorgenommen.

Ich liess mir zunächst von dem Universitätsmechaniker Hrn. P. Schultze einen Träger für das Röhrchen construiren, der aus zwei metallenen Platten von Form (ff Zeichn. A) bestand, die durch eine Querstange unbeweglich verbunden waren. Der Träger wurde in eine Wanne gethan, mit einer Libelle horizontal eingestellt, auf den Träger das Röhrchen gelegt, so viel Wasser in die Schüssel gegossen, dass das Röhrchen nicht zu schwimmen begann und darauf letzteres, wie üblich, mit den Fingern um seine Längsaxe gedreht, bis die Gelatine erstarrt war. Die Gelatine war in gleicher Dicke im Pfropf- wie im Kuppentheil vertheilt, in ersterem reichte sie nur in Form eines dünnen Ringes auf die Watte, in letzterem war nur ein Theil der Kuppe noch mit Gelatine

bedeckt, die Kuppe selbst aber ganz ohne Gelatinebelag. Am Pfropftheil war aber doch noch eine unbequeme Erscheinung zu bemerken, die beseitigt werden musste. Beim Hineindreuen des Wattebausches reichte

aa Zwei unter einem rechten Winkel gebogene Eisenstäbe sind an einem Tisch unbewegl. befestigt.

b Schraube zur wagerechten Einstellung des Unterstützungsapparates *ff* an den Eisenstäben.

ccc Transmissionsriemen zur Uebertragung der Bewegung vom Rade auf das Röhrchen.

d Dorn m. Rollenträger zum Spannen d. Riemens.

ee' Esmarch'sches Röhrchen mit verengtem Hals und becherförmigem Endtheil f. d. Wattepfropf.

ff Träger für's Esmarch'sche Röhrchen m. einer Libelle wagerecht eingestellt.

gg Frictionsrädchen.

hh Bewegliche Arme, durch eine Spiralfeder verbunden, um den verengten Hals zu fixiren. An ihren Enden gleichfalls Frictionsrädchen *g*.

i Widerlager durch die Schraube *k* verstellbar je nach der Länge des Esmarch'schen Röhrchens zum Fixiren der Kuppe.

l Verschiedene Einsätze, die je nach der Länge und dem Durchmesser d. Röhrchens durch d. Schraube *m* am Träger *ff* befestigt werden.

Fig. A. Rotationsapparat.

derselbe bei den etwa 3^{cm} im Durchmesser haltenden Röhrchen nicht gleichmässig tief in den Hals hinein, die Watte bildete vielmehr einen Zapfen, der nicht in einer Ebene die Innenwand des Gläschens berührte und somit schloss auch der Gelatinecylinder nicht mit einer Kreislinie

scharf ab, sondern zeigte Ein- bzw. Ausbuchtungen, welche nach Anbringung einiger Hilfslinien mit einer Bleifeder, wiederum separat gezählt

Fig. B. Tisch m. Rotationsapparat u. Wanne.

- a Rad mit Transmissionsriemen.
- b Rotationsapparat (Fig. A).
- c Tisch unbewegl. an der Wand befestigt.
- d Mit Eiswasser gefüllte Wanne.
- e Trittbrett zum Heben der Wanne, so dass das Esmarch'sche Röhrchen in's Wasser taucht.

werden mussten. Ich liess daher im Propftheil des Gläschens eine Einschnürung (Figg. A und C) anbringen, wobei ein möglich steiles Abfallen des Glases angestrebt wurde. Indem diese Einschnürung ca. 3 cm vom Rande des Gläschens ausgeführt wurde, verblieb ein becherförmiges Endtheil (Fig. A e') zur Aufnahme des Wattepfropfens. Ich erreichte dadurch dreierlei: Einmal hörte der Gelatinecylinder nach beiden Seiten in einer zur Längsaxe des Röhrchens senkrechten Kreislinie auf, 2. berührte die Gelatine gar nicht mehr den Wattepfropf und 3. veränderte sich die Länge des Gelatinecylinders in ein und demselben Röhrchen bei verschiedenen Versuchen nur um 1—2 mm. Die Oberfläche aller Röhrchen betrug daher immer 120 qcm (10 cm Umfang und 12 cm Länge), was mir beim Berechnen der Colonieenzahl im ganzen Röhrchen nicht wenig Mühe ersparte. Durch den verengten Hals liess sich das Röhrchen wie üblich reinigen und mit Gelatine beschicken. Mit dem in dieser Weise modificirten Esmarch'schen Röhrchen habe ich eine Reihe von quantitativen Bestimmungen der Erdbakterien vorgenommen, über deren Resultate ich demnächst eine Mit-

theilung zu machen gedenke. Als Verdünnungsmittel für Erde benutze ich fein zerstampftes Glaspulver oder Sand.¹ Während des Ausrollens auf

¹ Vergl. Oscar Eberbach, Ueber das Verhalten der Bakterien im Boden. Dorpat 1890. *Dissertation*.

dem oben beschriebenen Träger erkannte ich alsbald, dass die Gelatineschicht dennoch nicht im Verlaufe des ganzen Röhrchens eine gleichmässige war, vielmehr fanden sich an verschiedenen Stellen ringförmige Verdickungen, die sich durch die intensivere Färbung zu erkennen gaben. Beim Durchzählen der Colonieen ergab es sich, dass gleichzeitig mit der Anhäufung von Erdpartikelchen (intensiver graue Färbung) auch eine grössere Zahl von Colonieen gezählt wurde. Diese circular das Röhrchen umgebenden Ringe traten nun aber nicht immer an derselben Stelle auf, sondern rückten bald näher zum Pfropf, bald näher zur Kuppe, auch wechselte ihre Zahl und Dicke. Am

Fig. C. Zählapparat.

aa horizontale, *bb* senkrechte Platte, unter einem rechten Winkel unbeweglich mit einander verbunden. *i* senkrecht auf *a* und *b* stehende Platte, welche die Hülse *c* zur Aufnahme des Esmarch'schen Röhrchens *pp* trägt und durch die Schraube *k*, je nach der Länge des Röhrchens, an der Platte *b* verschoben und darauf fixirt werden kann. *d* Schlittenapparat mit Zählquadrat *f* und Gewicht *g*. *k* Knopf zum Drehen der Hülse *c* mitsamt dem Röhrchen *pp*. *ll* Frictionsrädchen, welche durch die Spiralfeder *m* das Röhrchen *pp* an die Hülse *c* andrücken. *n* Klammer mit Frictionsrädchen, um den becherförmigen Halstheil zu fixiren.

wahrscheinlichsten schien es mir, dass das Anfassen mit den Fingern die Hauptschuld an dieser Erscheinung trage, indem durch verschiedene Abkühlung bzw. Erwärmung des Glases eine verschiedene Dicke der Gelatineschicht an verschiedenen Stellen des Röhrchens bedingt wurde, doch konnte auch in Folge der Reibung an den Unterstützungspunkten oder in Folge der verschiedenen Dicke der Glaswandung, eine ungleichmässige Erwärmung und nicht gleichzeitige Erstarrung der Gelatine eingetreten sein. Den genannten störenden Einfluss suchte ich dadurch zu eliminiren, dass ich einen 20 Meter langen Bindfaden um den mittleren Theil des Röhrchens zwischen den Unterstützungspunkten wickelte und

denselben durch den Diener abwickeln liess, während ich das Röhrchen auf dem Träger in der Wasserwanne fixirte. Da nun aber die Schnur das Röhrchen während des Ablaufens nach oben zog, mussten ein Paar Klammern am Träger angebracht werden, welche von oben her einen Gegendruck ausübten. Obgleich ein Paar Gummifrictionsrädchen in den Klammern angebracht waren, wurde meine Absicht nicht erreicht. Drückten die Klammern zu fest das Röhrchen an die Unterstützungspunkte der Träger, so liess sich der Faden nicht in gleichmässigem Tempo abwickeln, waren sie zu lose, so wurde, je nachdem von welcher Stelle die Schnur abgewickelt wurde, dieses oder jenes Ende des Röhrchens mehr gehoben, demnach aus der horizontalen Lage verrückt. Auch der Versuch, die Schnur nur um den mittleren Theil des Röhrchens zu wickeln, musste als unzweckmässig verworfen werden, da dieser Theil durch die fast 1^{cm} dicke Lage der Schnur vor der Einwirkung des kalten Wassers geschützt erschien.

Diese Misserfolge veranlassten mich, den Apparat noch weiter zu modificiren. Ich kehrte den Träger um (Zeichn. A), so dass das Röhrchen unter demselben zu liegen kam, und wickelte die Schnur wiederum um das ganze Röhrchen herum. Die vier Unterstützungspunkte wurden durch die von unten angedrückte Libelle horizontal eingestellt und die Wanne mit Wasser gefüllt. Wurde nun das Röhrchen mitsammt dem Träger bis auf den horizontal eingestellten Boden der Wanne gebracht, so besorgte das Wasser selbst ein gleichmässiges Andrücken des Röhrchens an den horizontal eingestellten Unterstützungsapparat und der über ein Rad laufende Bindfaden zog gleichfalls nach oben, unterstützte demnach die Druckwirkung des Wassers. Während des Abwickelns der Schnur musste ich jedoch das Röhrchen mit beiden Händen am Pfropf- und Kuppentheil mehr weniger fixiren, um das seitliche Schleudern bezw. das Herausspringen des Röhrchens aus dem Apparat zu verhindern. Da ausserdem das Eintauchen der Hände in Eiswasser auf die Dauer unbequem wird, so wurden zum Fixiren des Halses und der Kuppe zwei Hülfsvorrichtungen angebracht (Zeichn. A, *h/h* u. *i*), wodurch die Aufgabe der Hände ersetzt wurde. Weiter wurde zur Vereinfachung statt des Bindfadens ein Transmissionsriemen zur Uebertragung der Bewegung vom Rade auf das Röhrchen (Zeichn. A, *ccc*) benutzt, wodurch die Schnelligkeit des Rotirens und die Dauer der Bewegung je nach der Temperatur des Wassers beliebig modificirt werden konnte. Endlich wurde noch an der Wasserwanne eine Hebevorrichtung angebracht, wie dieses aus Fig. B zu ersehen ist. Durch einen Druck mit dem Fuss auf das Trittbret *e* wird die Wanne von unten her gegen das Röhrchen so weit gehoben, bis letzteres völlig vom Wasser bedeckt ist.

Das Ausrollen der Esmarch'schen Röhrchen wird demnach in folgender Weise ausgeführt: Die Röhrchen werden in Wasser von 28° R. gestellt, die Wanne mit Wasser gefüllt, in welchem Eisstückchen schwimmen und der Rotationsapparat mit der Libelle und der Stellschraube *b* (Zeichnung A) horizontal eingestellt. Nach Impfung der Röhrchen wird durch Neigung derselben und gleichzeitiges Drehen um die Längsaxe das Condenswasser im Halstheil mit der dünnflüssigen Gelatine abgespült, wobei die gleichmässige Mischung der Gelatine mit dem Wasser bezw. der Erde vor sich geht, dann wird die Gummikappe aufgesetzt und das Röhrchen von rechts her mit der Kuppe voran in möglichst horizontaler Lage unter den Trägern (vgl. Zeichnung A) so weit vorgeschoben, bis die beweglichen Arme *hh* am verengten Halstheil einschnappen. Durch die Schraube *k* wird das Widerlager *i* bis zur Kuppe vorgeschoben, doch lehrt die Erfahrung, dass die Arme *hh* zum Fixiren des Gläschens genügen, somit das Widerlager *i* ganz fortfallen könnte. Da meine grösseren Röhrchen gegenwärtig durchweg einen cylindrischen Theil von 10 cm Länge besitzen, ist ein Umstellen des Widerlagers für gewöhnlich nicht nöthig, nur falls die 12.5 cm langen Röhrchen mit 8 cm Umfang gebraucht werden, muss das Widerlager verschoben werden und gleichzeitig entsprechend dem geringeren Durchmesser zwei andere Träger bei *ff* angeschraubt werden. Während des Hineinschiebens des Röhrchens in den Rotationsapparat muss dasselbe auch durch den Transmissionsriemen *ccc* hindurch geschoben werden. Derselbe, aus Leder bestehend, 6 mm breit, hat einen Gummibandeinsatz (Zeichnung A, weisser Theil), um die Dehnbarkeit zu vermehren. Andererseits wird der Transmissionsriemen, der während des Hineinschiebens schlaff vom Rade herabhängt, darnach auf den Rollenträger am Dorn *d* gethan, wodurch der Riemen genügend gespannt wird, um die Bewegung vom Rade auf die glatte Oberfläche des Röhrchens selbst unter Wasser zu übertragen. Sobald das Röhrchen im Rotationsapparat fixirt ist, beginnt man das Rad zu drehen und zwar so rasch, dass die dünnflüssige Gelatine in Folge der Centrifugalwirkung an die innere Oberfläche geschleudert wird, dann wird der Kaltwasserbehälter gehoben und das Rotiren mit gleicher Schnelligkeit 20—30 Sekunden lang fortgesetzt, bis die Gelatine erstarrt ist. Nun wird der Riemen vom Dorn abgehoben und das Röhrchen herausgezogen, abgetrocknet und gegen das Licht gehalten, um etwaige Fehler im Gelatinecylinder zu erkennen. Nach dem Augenschein zu urtheilen, liegt die Gelatine in gleichmässiger Schicht dem cylindrischen Theil des Röhrchens an, die Kuppe wie der Halstheil sind völlig gelatinefrei.

Die durch ein Trittbrett zu hebende Wanne kann auch fortgelassen werden, da das Röhrchen durch den Transmissionsriemen allein schon hin-

länglich unter den horizontal eingestellten Trägern fixirt ist und es der Unterstützung durch das von unten her drückende Wasser nicht mehr bedarf. Es genügt, nachdem die Gelatine durch die Centrifugalkraft an den Wandungen des Röhrchens fixirt ist, aus einer Gieskanne kaltes Wasser auf das Röhrchen zu giessen, ja selbst das Wasserleitungswasser genügt, nur muss entsprechend der höheren Wassertemperatur das Centrifugiren längere Zeit fortgesetzt werden, doch möchte ich diese Modification nicht empfehlen, da das niederfallende Wasser möglicher Weise eine ungleichmässige Erschütterung der Wandung und somit eine ungleichmässige Vertheilung der Gelatine bewirken könnte. Da beim raschen Rotiren das Wasser mit dem Riemen auf das Rad geführt und die Umgebung bespritzt wird, habe ich eine Blechkappe auf das Rad setzen lassen und unter dem Rade einen Ausschnitt mit geneigter Platte angebracht, so dass das Wasser vom Rade und vom Tisch in die Wanne zurückfliesst und weder Wand noch Diele benetzt werden. (Fig. A.)

Mit Hülfe dieses Apparates habe ich nun eine Reihe von Versuchen ausgeführt, um festzustellen, wie viel Quadrate im cylindrischen, 12 bzw. 10 cm langen Röhrchen gezählt werden müssen, um brauchbare Mittelwerthe zu finden, aus denen sich die Totalsumme der im Röhrchen vorhandenen Colonieen berechnen lässt. Weiter wollte ich feststellen, an welcher Stelle des Röhrchens die Quadrate auszuzählen seien.

Diese Versuche liessen sich weder mit Erde noch Brunnenwasser ausführen, denn zum Auszählen der 120 bzw. 100 Quadrate in zehn Röhrchen bedurfte es zu viel Zeit, während die verflüssigenden Arten ein Zählen innerhalb kürzerer Zeit geboten. Ich wählte daher eine im Wasser weit verbreitete, nicht verflüssigende Kokkenart.

Der *Haufencoccus* producirt einen gelblichen Farbstoff und breitet sich an der Oberfläche in dünner weisser Schicht aus, welche die zwischen derselben und dem Auge im Innern der Gelatine sich entwickelnden, scharf umgrenzten, gelben, runden Colonieen deutlich erkennen lässt, so dass ein fehlerfreies Zählen von 40—60 Colonieen im Quadratcentimeter mit Leichtigkeit ausgeführt werden kann. Vom sechsten Tage an hört ein Weiterwachsen der Colonieen auf und solche Röhrchen habe ich noch nach $\frac{1}{2}$ Jahr zählen können, ohne Differenz im Zählresultat. Auch ist die gelbe Farbe, ohne gerade grell zu sein, intensiv genug, um das Auge nicht zu ermüden. Nach einigen Versuchen gelang es mir, eine Verdünnung in Aq. dest. steril. herzustellen, von der ich 1 cm in's Rollröhrchen hineinbringen musste, um 20—60 Colonieen im Quadratcentimeter zu finden.

Meine ersten Versuche galten der Prüfung der Genauigkeit im Zählen selbst. Sowohl in der Längsrichtung wie auch cirkulär wurde ein 1 cm

breiter Streifen bzw. Ring am Gläschen durchgezählt und dabei festgestellt, dass eine Woche alte Röhren bei wiederholtem Zählen bis zu zwei Procent gleiche Resultate ergaben, wenn nur unter gleichen Bedingungen gezählt wurde, und erkannte ich als solche die verschiedene Helligkeit: Sonnen-, Tageslicht und künstliche Beleuchtung und die Ermüdung des Auges, und erst nach Ausscheidung dieser störenden Momente liessen sich oben erwähnte Zählresultate erzielen. In wie weit die Beobachtungen beim Durchzählen aller 100 □ eines Röhrens übereinstimmen, mögen folgende Versuchsreihen zeigen:

Tabelle I.

Die Menge der Colonien in den einzelnen Röhren in 6 Versuchsreihen.

24./XII.

Nummer	Oberfläche in qm	Gezählt				Berechnet aus 10 □			
		Absolute Zahl der Colonien	Relat. Zahl Mittel = 1000	Abweich. vom Mittel	Reihen- folge	Absolute Zahl der Colonien	Relat. Zahl Mittel = 1000	Abweich. vom Mittel	Reihen- folge
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
11	102.2	6584	1024	+ 24	2	6840	1055	+ 55	2
12	101.5	6481	1011	+ 11	4	6420	990	- 10	6
13	102.3	6635	1035	+ 35	1	6890	1063	+ 63	1
14	102.0	6250	975	- 25	9	6190	955	- 45	9
15	102.6	6507	1015	+ 15	3	6560	1012	+ 12	4
16	103.3	5961	930	- 70	10	6110	942	- 58	10
17	102.3	6439	1005	+ 5	6	6670	1029	+ 29	3
18	102.3	6454	1007	+ 7	5	6530	1008	+ 8	5
19	102.2	6409	1000	± 0	7	6280	969	- 31	8
20	103.3	6394	998	- 2	8	6330	977	- 23	7
Mittel	102.4	6411.4	1000	± 1.94%		6482.0	1000	± 3.34%	

30./III.

11	vgl. Tab. I, 24./XII.	4046	953	- 47	10	4180	988	- 12	6
12		4089	963	- 37	9	3960	937	- 63	10
13		4269	1005	+ 5	5	4200	993	- 7	5
14		4461	1051	+ 51	1	4420	1045	+ 45	2
15		4357	1026	+ 26	2	4430	1048	+ 48	1
16		4164	981	- 19	7	4390	1039	+ 39	3
17		4255	1002	+ 2	6	4120	974	- 26	8
18		4344	1023	+ 23	3	4350	1029	+ 29	4
19		4145	976	- 24	8	4070	963	- 37	9
20		4332	1020	+ 20	4	4160	984	- 16	7
Mittel		4246.2	1000	± 2.54%		4228.0	1000	± 3.22%	

17./III.

Nummer	Oberfläche in qcm	Gezählt				Berechnet aus 10 □			
		Absolute Zahl der Colonien	Relat. Zahl Mittel = 1000	Abweich. vom Mittel	Reihen- folge	Absolute Zahl der Colonien	Relat. Zahl Mittel = 1000	Abweich. vom Mittel	Reihen- folge
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
11	vgl. Tab. I, 24./XII.	3643	1045	+ 45	3	3580	1029	+ 29	2
12		3340	958	- 42	9	3400	977	- 23	7
13		3729	1069	+ 69	1	3760	1080	+ 80	1
14		3346	960	- 40	8	3540	1018	+ 18	4
15		3394	973	- 27	7	3410	980	- 20	6
16		3661	1050	+ 50	2	3520	1011	+ 11	5
17		3187	914	- 86	10	3330	957	- 43	9
18		3517	1009	+ 9	5	3390	974	- 26	8
19		3482	999	- 1	6	3310	948	- 52	10
20		3556	1023	+ 23	4	3570	1026	+ 26	3
Mittel		3485.5	1000	± 3.92%		3481.0	1000	± 3.28%	

6./III.

11	desgl.	2206	1032	+ 32	3	2220	1038	+ 38	2
12		2195	1027	+ 27	4	2170	1015	+ 15	5
13		2142	1002	+ 2	7	2060	963	- 37	8
14		2178	1019	+ 19	5	2200	1029	+ 29	3
15		2165	1013	+ 13	6	2070	968	- 32	7
16		1972	922	- 78	10	1990	931	- 69	10
17		2255	1055	+ 55	1	2170	1015	+ 15	4
18		1998	934	- 66	9	2030	949	- 51	9
19		2036	952	- 48	8	2130	996	- 4	6
20		2232	1044	+ 44	2	2340	1096	+ 96	1
Mittel		2137.9	1000	± 3.84%		2138.0	1000	± 3.86%	

16./II.

11	desgl.	1852	979	- 21	7	1820	956	- 44	8
12		1850	978	- 22	8	1940	1020	+ 20	4
13		2013	1064	+ 64	1	1980	1040	+ 40	3
14		1785	944	- 56	9	1890	993	- 7	7
15		1918	1014	+ 14	4	1990	1046	+ 46	2
16		1880	994	- 6	5	1770	930	- 70	9
17		1782	942	- 58	10	1730	909	- 91	10
18		1993	1054	+ 54	2	1890	993	- 7	6
19		1974	1044	+ 44	3	2090	1097	+ 97	1
20		1866	987	- 13	6	1930	1016	+ 16	5
Mittel		1891.3	1000	± 3.52%		1903.0	1000	± 4.38%	

28./I.

11	desgl.	2963	988	- 12	7				
12		2963	988	- 12	8				
13		3050	1017	+ 17	2				
14		3044	1015	+ 15	3				
15		3177	1060	+ 60	1				
16		2972	991	- 9	6				
17		2907	970	- 30	10				
18		2973	991	- 9	5				
19		2910	971	- 29	9				
20		3025	1009	+ 9	4				
Mittel		2998.4	1000	± 2.02%					

Auf der linken Seite der Tabelle sind die durch's Zählen aller 100 □ ermittelten Summen, auf der rechten die durch Berechnung aus 10 □ gefundenen Werthe verzeichnet. Da die absoluten Zahlen Spalte 3 und 7 wegen der wechselnden Zahl der Colonieen in den einzelnen Versuchsreihen sich zum Vergleich nicht eignen, habe ich in Spalte 4 und 8 die entsprechenden Verhältnisszahlen eingetragen, wobei das aus den absoluten Zahlen berechnete Mittel = 1000 gesetzt und mit diesem Mittel jeder einzelne Summand in Relation gebracht wurde. In Spalte 5 und 9 sind die Abweichungen vom = 1000 gesetzten Mittel vermerkt und mit den entsprechenden Zeichen versehen, je nachdem dieselben grösser oder kleiner als das Mittel waren. In Spalte 6 und 10 sind die Röhrchen je nach der Colonieenzahl geordnet. Berücksichtigen wir zunächst die linke Seite der Tabelle, so sehen wir, dass die während ein und derselben Versuchsreihe ermittelten Summen selbst beim Durchzählen aller Quadrate nicht vollkommen übereinstimmen. Die geringsten Abweichungen ± 2.0 Proc. finden sich in der Versuchsreihe vom 24./XII., die grössten ± 4.0 Proc. am 17./III., in der ersteren handelte es sich um die grössten absoluten Zahlen, nicht aber in der zweiten Reihe um die kleinsten absoluten Zahlen. Diese Abweichungen sind jedenfalls nicht als Zählungsfehler anzusehen, da, wie oben bemerkt, eine wiederholte Zählung jedes abweichende Resultat controlirte. Auch kann die verschiedene Grösse der Quadratoberfläche der einzelnen Röhrchen keinen Einfluss gehabt haben, denn wie aus Tabelle II zu ersehen, in welcher Spalte 5 und 6 bzw. 9 und 10 mit Spalte 2 (Tab. I) combinirt sind, vertauschen die einzelnen Röhrchen ihre Plätze in verschiedenen Versuchsreihen vielfach trotz gleicher Quadratfläche.

Tabelle II.
 Reihenfolge der Röhrchen je nach der Zahl der Colonieen.

Nummer	Gezählt						Berechnet aus 10 □						Quadrat- oberfläche
	24./XII.	30./III.	17./III.	6./III.	16./II.	Summa	24./XII.	30./III.	17./III.	6./III.	16./II.	Summa	
11	2	10	3	3	7	25	2	6	2	2	8	20	102.2
12	4	9	9	4	8	34	6	10	7	5	4	32	101.5
13	1	5	1	7	1	15	1	5	1	8	3	18	102.3
14	9	1	8	5	9	32	9	2	4	3	7	25	102.0
15	3	2	7	6	4	22	4	1	6	7	2	20	102.6
16	10	7	2	10	5	34	10	3	5	10	9	37	103.3
17	6	6	10	1	10	33	3	8	9	4	10	34	102.3
18	5	3	5	9	2	24	5	4	8	9	6	32	102.3
19	7	8	6	8	3	32	8	9	10	6	1	34	102.2
20	8	4	4	2	6	24	7	7	3	1	5	23	103.3

Nr. 13 steht dreimal an erster, einmal an fünfter und einmal an siebenter Stelle, Nr. 16 je einmal an zweiter und zehnter. Nr. 17 zweimal an zehnter, einmal an erster Stelle.

Weiter kann auch nicht die Ungenauigkeit in der Eintheilung der Pipette, aus welcher die Flüssigkeit hinzugesetzt wurde, die Unterschiede in der Colonieenzahl bedingt haben, denn in der Versuchsreihe vom 6./III. füllte ich die Pipette, nachdem ich die fünf ersten Röhrchen beschickt hatte, von Neuem mit der Bakterienaufschwemmung, doch zeigte sich keine Congruenz zwischen den einzelnen Röhrchen der ersten und zweiten Hälfte. Am 16./II. liess ich in jedes Röhrchen, nicht wie üblich 1 ^{cm}, sondern je 15 Tropfen der Aufschwemmung hinzufliessen und auch diese Reihe zeigt ebenso grosse Abweichungen, wie sie in den anderen Versuchsreihen beobachtet wurden.

Es muss demnach angenommen werden, dass die Vertheilung der Bakterien in der Aufschwemmung keine vollkommen gleichmässige gewesen sein kann und betragen diese Schwankungen trotz sorgfältigen Schüttelns der Lösung nach Tabelle I von 2 bis 4 Procent, im Mittel demnach ± 3 Procent. Mit dieser Grösse der Abweichung wird man sich wohl bei allen quantitativen Untersuchungen über die Keimzahl im Wasser oder der Erde begnügen müssen.

Für die Praxis haben die Zählresultate aus Tabelle I keinen Werth, denn es ist unmöglich, in zehn Röhrchen die ganze Oberfläche auszu zählen. Allgemein üblich ist es, aus drei Röhrchen das Mittel zu ziehen und in den drei Röhrchen auch nur eine gewisse Zahl von Quadraten zu berücksichtigen. Es fragt sich nur, wie viele Quadrate müssen im einzelnen Röhrchen berücksichtigt werden und an welcher Stelle des Röhrchens soll gezählt werden und wie gross wird in solch' einem Fall die Wahrscheinlichkeit sein, dass dieses Mittel mit der wirklichen durch Auszählung aller Quadrate ermittelten Summe übereinstimmen wird. Zur Beleuchtung dieser Fragen dürfte Tabelle I verwerthet werden.

Bei Berücksichtigung von zehn Quadraten, die an bestimmten Stellen in jedem einzelnen der zehn Röhrchen ausgewählt waren, erlangte ich folgende Resultate (vergl. die rechte Hälfte von Tab. I).

Stellen wir zunächst die absoluten Totalsummen neben einander:

	Gezählt	Berechnet	Gezählt	Berechnet
24./XII.	64 114	64 820	} = 1000:	1011
30./III.	42 462	42 280		996
17./II.	34 855	34 810		999
6./III.	21 379	21 380		1000
16./II.	18 913	19 030		1005
Summa:	181 723	182 320	= 1000:	1003.3

so stimmen die Zahlen mit Ausnahme der ersten Versuchsreihe fast völlig mit einander überein. Beim Vergleich der Abweichungen der einzelnen Summanden vom Mittel (Spalte 5 u. 9, Tab. I) ergibt sich, dass diese Abweichungen für die berechneten Zahlen etwas grösser sind, wie folgende Uebersicht lehrt:

Abweichung vom Mittel:

	Gezählt	Berechnet
24./XII.	± 1.94 Proc.	± 3.34 Proc.
30./III.	± 2.54 „	± 3.22 „
17./III.	± 3.92 „	± 3.28 „
6./III.	± 3.84 „	± 3.86 „
16./II.	± 3.52 „	± 4.38 „
Mittel:	± 3.15 „	± 3.61 „

Wenn man demnach trotz Auszählens aller Quadrate dennoch auf Abweichungen von ± 3 Procent stösst, so kann man bei Berücksichtigung von nur zehn Quadraten in je zehn Röhrchen auf ± 3.5 Procent rechnen. Die Resultate stimmen recht gut überein.

Eine gleiche Uebereinstimmung ergibt sich auch aus Tabelle II: Die Reihenfolge, in welcher die einzelnen Röhrchen nach der Colonieenzahl geordnet in den verschiedenen Versuchsreihen auf einander folgen, unterliegt in beiden Reihen (gezählt und berechnet) gewissen Schwankungen, doch sind diese Schwankungen ähnlich, d. h. falls sich in einem Röhrchen beim Auszählen eine über's Mittel gehende Colonieenzahl findet, so übersteigt auch die berechnete Zahl das Mittel und umgekehrt. Auch bei Berücksichtigung der Summen in Tabelle II ergibt es sich, dass Nr. 13 und 15 in beiden Reihen am häufigsten eine grosse, Nr. 16 und 17 eine kleine Zahl von Colonieen gezeigt haben.

Es fragt sich nun weiter, um wie viel Procent sich die Wahrscheinlichkeit, das richtige Mittel gefunden zu haben, verringern wird, falls statt zehn Röhrchen nur drei in Rechnung gebracht werden. Zu diesem Zwecke habe ich die ungünstigsten Bedingungen gewählt, ich habe die drei kleinsten und die drei grössten Summanden berücksichtigt, aus denselben je ein Mittel berechnet und dieses mit dem aus zehn Röhrchen ermittelten in Relation gesetzt. Dasselbe habe ich dann auch noch für je zwei Röhrchen und endlich auch noch für je eines durchgeführt:

	Gezählt:			Berechnet:		
	1 Röhrchen	2 Röhrchen	3 Röhrchen	1 Röhrchen	2 Röhrchen	3 Röhrchen
24./XII.	± 5.2 Proc.	± 3.9 Proc.	± 2.8 Proc.	± 6.6 Proc.	± 5.5 Proc.	± 4.7 Proc.
30./III.	± 4.9 „	± 4.0 „	± 3.4 „	± 5.5 „	± 4.8 „	± 4.3 „
17./III.	± 7.7 „	± 6.2 „	± 5.5 „	± 6.5 „	± 5.1 „	± 4.2 „
6./III.	± 6.7 „	± 6.1 „	± 5.4 „	± 8.2 „	± 6.3 „	± 5.3 „
16./II.	± 6.1 „	± 5.8 „	± 4.9 „	± 9.4 „	± 7.5 „	± 6.4 „
Mittel:	± 6.1 „	± 5.2 „	± 4.4 „	± 7.1 „	± 5.8 „	± 5.0 „

Berechnet man demnach ein Mittel aus nur drei Röhrchen, in welchen man nur zehn Quadrate an bestimmten Stellen ausgezählt hat, so kann man auf eine Abweichung von ± 5 Procent rechnen. Viel grösser werden die Abweichungen, falls man ein Mittel aus gleichfalls zehn Quadraten, welche jedoch nach dem Zufall durch Würfeln aus den 100 Quadraten ausgewählt wurden, berücksichtigt, oder falls man statt zehn Quadraten nur eine geringere Anzahl auszählt. Letztere Möglichkeit habe ich nicht weiter berücksichtigt, da die meisten Autoren zehn Quadrate benutzen.

	Berechnet aus 10 bestimmten □				Berechnet aus 10 durch Würfeln bestimmten □			
	1 Röhr.	2 R.	3 R.	10 R.	1 Röhr.	2 R.	3 R.	10 R.
24./XII.	$\pm 6.6\%$	$\pm 5.5\%$	$\pm 4.7\%$	$\pm 3.3\%$	$\pm 10.0\%$	$\pm 8.3\%$	$\pm 7.5\%$	$\pm 5.7\%$
30./III.	$\pm 5.5\%$	$\pm 4.8\%$	$\pm 4.3\%$	$\pm 3.2\%$	$\pm 11.8\%$	$\pm 8.8\%$	$\pm 7.8\%$	$\pm 5.8\%$
17./III.	$\pm 7.7\%$	$\pm 6.2\%$	$\pm 5.5\%$	$\pm 3.3\%$	$\pm 11.5\%$	$\pm 8.8\%$	$\pm 7.5\%$	$\pm 5.7\%$
Mittel	$\pm 6.6\%$	$\pm 5.5\%$	$\pm 4.8\%$	$\pm 3.3\%$	$\pm 11.1\%$	$\pm 8.6\%$	$\pm 7.6\%$	$\pm 5.7\%$

Es kommt demnach wesentlich auf die Stelle des Röhrchens an, an welcher man die zur Ermittlung der mittleren Colonieenzahl bestimmten zehn Quadrate auswählt. Diese Stellen habe ich durch wiederholtes Auszählen aller Quadrate eines Röhrchens festgestellt und lässt sich im Allgemeinen behaupten, dass diese Stellen weder in der Mitte noch im Anfange oder Ende des Röhrchens liegen, sondern beim Uebergang des mittleren Theils in den Kuppen- bzw. Pfropftheil, doch kommen bei einzelnen Röhrchen Verschiebungen nach beiden Seiten vor. Der cylindrische Theil meiner Röhrchen war 10^{cm} lang und zählte ich von der Kuppe zum Pfropf hin von 1 bis 10. Die Stellen, an denen gezählt wurde, lagen bei Röhrchen:

Nr. 11 zwischen 10 u. 9	und	4 u. 3	Nr. 16 zwischen 9 u. 8	und bei	4
„ 12 „ 9 u. 8	und bei	3	„ 17 bei 10	und bei	4
„ 13 bei 8 u. zwisch. 3 u. 2			„ 18 zwischen 9 u. 8 u. zwisch. 4 u. 3		
„ 14 bei 10 „ „ 4 u. 3			„ 19 „ 9 u. 8 „ „ 4 u. 3		
„ 15 zwischen 8 u. 7 „ „ 4 u. 3			„ 20 „ 10 u. 9 und bei		4

Da nun ein wenn auch nur einmaliges Auszählen aller Quadrate eine zeitraubende Operation darstellt und die zu wählenden zehn Quadrate nicht bei allen Röhrchen an ein und derselben Stelle liegen, so suchte ich festzustellen, weshalb die Stelle des Zählens bald von 10 bis 7 bzw. 4 bis 2 verschoben werden musste, um Quadrate mit einer mittleren Colonieenzahl zu erlangen. Zu diesem Zweck musste ich das einzelne Röhrchen zunächst darauf prüfen, ob sich in den verschiedenen Versuchsserien an denselben Stellen eine Anhäufung bzw. Verminderung von

Colonieen nachweisen liess, oder ob die Menge regellos wechselte. Wie schon bemerkt, erschien mir nach Anwendung der Centrifuge die Vertheilung der Gelatine innerhalb des cylindrischen Theils des Röhrchens eine äusserst gleichmässige zu sein. In der Längsrichtung wie auch circular liess sich mit blossen Auge kein Unterschied in der Dicke der Gelatineschicht wahrnehmen und veranlasste mich zumeist dieser Umstand zum zeitraubenden Auszählen aller Quadrate, da ich mich der Hoffnung hingab, aus zwei oder drei Quadraten bereits ein brauchbares Mittel finden zu können.

Es zeigte sich jedoch, dass die Vertheilung der Gelatine durchaus keine ganz gleichmässige war, wie es zunächst schien, denn beim Auszählen der Colonieen in der Längsrichtung wie circular fanden sich Abweichungen, die sich in den verschiedenen Versuchsreihen an denselben Stellen wiederholten und somit eine Gesetzmässigkeit in der ungleichen Vertheilung der Colonieen bzw. der Gelatine bewiesen, die auf bestimmte physikalische Eigenthümlichkeiten des Röhrchens hinwiesen. Diese Besonderheiten aufzudecken, schien mir lohnenswerth, indem das Auswählen von Quadraten mit mittlerer Keimzahl wesentlich dadurch erleichtert werden musste.

Beim genaueren Betrachten eines centrifugirten Röhrchens, an dessen Innenwand die Gelatine scheinbar in gleich dicker Schicht von 1^{mm} Höhe¹ erstarrt war, zeigte es sich namentlich beim Beobachten von Lichtreflexen, dass die Dicke der Glaswandung sowohl in der Längsrichtung wie auch circular keine gleiche sein könne. Diese Annahme fand ihre Bestätigung beim Durchmessen der Wandung mit einer Leere, nachdem ich ein Gläschen in eine Serie 1^{cm} breiter Ringe zerschnitten hatte. Die Dicke der Gelatineschicht liess sich dabei nicht messen. Um auch das unversehrte Gläschen mit genügender Genauigkeit messen zu können, construirte mir Hr. P. Schultze eine Leere, mit der ich einmal die Wandstärke, andererseits den äusseren Durchmesser bestimmen konnte.

Die Leere besteht aus drei viereckigen 1^{cm} starken, 20^{cm} langen Stahlstäben, welche an einem noch stärkeren 47^{cm} hohen Galgen unbeweglich neben einander befestigt sind. Der rechte Stahlstab ist an seinem unteren Ende von einem horizontal liegenden Hebel mit kugliger Oberfläche durchbohrt, welcher eine Spiralfeder bewegt, deren Verschiebung am Zifferblatt abgelesen werden kann. Die beiden anderen Stäbe tragen in gleicher Höhe gleichfalls Hebel, welche durch Schrauben verstellt werden können, worauf sie als unbewegliche Punkte anzusehen sind. Zu-

¹ 10^{ccm} Gelatine auf eine Fläche von 100^{ccm} gleichmässig ausgebreitet, ergiebt eine Schicht von 1^{mm} Höhe.

nächst wird die Entfernung des beweglichen Hebels vom linken äusseren Stahlstabe auf genau 30^{mm} eingestellt, während der Zeiger auf 0 zeigt, darauf wird das zu messende Gläschen zwischen die beiden Punkte geschoben und somit der äussere Durchmesser bestimmt und seine Grösse am Zifferblatt abgelesen. Soll die Wandstärke abgemessen werden, so wird der bewegliche Hebelarm und der mittlere Stahlstab so eingestellt, dass der Zeiger auf 0 zeigt, dann wird das Gläschen von unten her so über den mittleren Stahlstab geschoben, dass beide Hebel die Glaswand zwischen sich fassen und am Zeiger die Entfernung abgelesen.

Hinter den drei Stäben steht noch ein vierter, 36^{cm} langer Stab, an welchem eine Metallhülse, in welche die Kuppe des Gläschens hineinpasst, in senkrechter Richtung verschoben werden kann. Die in zehn bzw. acht gleiche Theile getheile Hülse kann durch einen unter ihr befindlichen Knopf in der Horizontalebene gedreht werden. Da die Kuppe in der Metallhülse unbeweglich befestigt ist, macht das Gläschen gleichzeitig mit der Hülse eine Drehung um seine Längsaxe, so dass immer wieder neue Stellen des Gläschens zwischen die Hebelarme der Leere gebracht werden. Weiter kann die Hülse mitsammt dem Röhrchen am vierten Stabe um 0.5^{cm} verschoben werden, wodurch die Möglichkeit geboten ist, auch in der Längsrichtung des Gläschens nach einander alle Theile durchzumessen.

Ich habe nun an meinen Gläschen an je zehn Stellen (durch Senkung des Röhrchens um je 1^{cm} und durch Drehung um die Längsaxe) den äusseren Durchmesser und die Wandstärke bestimmt und somit für jedes Röhrchen 200 Messungen, die auf 1^{cm} in senkrechter wie horizontaler Richtung von einander abstanden, erhalten, von denen 100 dem Durchmesser und 100 der Wandstärke angehörten.

Um nun die gemessenen Stellen wiederfinden zu können, wurde das Gläschen in der Hülse unbeweglich befestigt und letztere am vierten Stabe so weit gehoben, dass die beiden Hebelarme zu beiden Seiten der Kuppe beim Uebergang in den cylindrischen Theil zu liegen kamen und am Gläschen ein horizontaler Strich ausgeführt, der durch beide Hebel hindurchging, dann die Hülse um 0.5^{cm} gesenkt und die erste Messung vorgenommen. Hierauf wurde die Hülse um einen Theilstrich gedreht, wieder gemessen und so fort, bis alle zehn Durchmesser bestimmt waren, dann wurde die Hülse mit dem Gläschen um 1^{cm} gesenkt und wiederum zehn Messungen ausgeführt und so weiter, bis alle 100 Messungen beendet waren. Um aber auch in der Horizontalen den Nullpunkt wiederzufinden, wurde auf den horizontalen Bleifederstrich ein senkrechter gesetzt und beide eingeritzt, so dass sie für immer fixirt waren.

Beim Bestimmen der zehn Durchmesser in den zehn Ringen wurde derselbe Durchmesser zweimal gemessen, das eine Mal während die Hülse

z. B. auf 0, das andere Mal auf 5 eingestellt, d. h. um 180° gedreht war. Nur selten stimmten beide Messungen vollkommen überein, vielmehr fanden sich Differenzen bis zu 0.05 mm . Diese Ungenauigkeiten waren nicht zu vermeiden und sind auf das fehlerhafte Centriren beim Fixiren der Kuppe in der Hülse zu beziehen. Ich habe das Mittel aus beiden Beobachtungen verwerthet.

Endlich wurde auch noch 10 cm von der an der Kuppe bezeichneten Marke, eine zweite im Halstheil des Röhrchens angestrichen, wo die Verengerung am Halse beginnen sollte.

Durch Subtraction der Wandstärke vom äusseren Durchmesser erhielt ich für die 100 Stellen, an denen gemessen worden war, den inneren Durchmesser und bei Berücksichtigung aller 10 bzw. 5 Durchmesser eines Ringes konnte ich feststellen, ob der Querschnitt des Röhrchens an der entsprechenden Stelle ein Kreis war oder mehr weniger davon abwich. Aeusserst selten waren alle Durchmesser gleich gross, meist war die Figur ein Oval, der grösste Durchmesser stand senkrecht auf dem kleinen, der Unterschied betrug meist 0.5 mm , doch fanden sich auch Ringe, wo der Durchmesser um 1 mm von einander abwichen. Durch Combination aller inneren Durchmesser liess sich einmal ein mittlerer Querschnitt, wie auch ein mittlerer Durchmesser für's ganze Röhrchen ermitteln.

Um nun die Colonieen entsprechend den gemessenen Stellen abzählen zu können, musste ich mir auch einen Zählapparat construiren. Derselbe besteht (Fig. C) aus zwei 17 cm langen Metallplatten, die unter einem r. Winkel unbeweglich verbunden sind. Am rechten Ende ist eine Metallhülse (c), wie bei der Leere angebracht zur Aufnahme der Kuppe des Röhrchens. Die Hülse ist gleichfalls in zehn gleiche Theile getheilt und mit entsprechenden Zahlen, die von 0 beginnen, bezeichnet. In diese Hülse wird das Röhrchen hineingethan, während der becherförmige Halstheil am linken Ende auf einer Unterlage ruht, wodurch die horizontale Lage des Röhrchens erreicht wird. Gleichzeitig achtet man darauf, dass der Nullpunkt der Hülse mit der senkrechten Marke am Röhrchen zusammenfällt. Am oberen Rande der senkrechten Platte sind von rechts nach links auf je 1 cm Entfernung die Zahlen 1 bis 10 (bzw. 12) eingravirt und durch Sperrvorrichtungen markirt. An demselben Rande läuft auch ein Schlittenapparat (d), welcher das 1 cm grosse Zählquadrat (f) trägt. Wenn das Zählquadrat bei 1 eingestellt ist, muss der rechte Rand desselben mit der horizontal verlaufenden Marke am Gläschen zusammenfallen. Nachdem das Gläschen in solcher Weise in beiden Richtungen justirt ist, wird das Zählquadrat so weit gegen den Halstheil verschoben, dass die Sperr-

vorrichtung bei 10 einschnappt, wobei der linke Rand des Zählquadrates auf die Halseinschnürung fällt und nun kann die Zählung beginnen.

Meinen Zählquadrat habe ich gleichfalls etwas modificirt, um die Parallaxe zu vermeiden. Anstatt aus dünnem Blech, ist es aus 5 bezw. 7^{mm} dickem Messing (*f*) ausgearbeitet und die Innenwände des Schachtes schwarz angestrichen, wodurch die Spiegelbilder verschwinden; ebenso ist auch die horizontale Platte angestrichen, wodurch unangenehme Lichtreflexe möglichst vermieden werden. Weiter befinden sich am Boden des Schachtes drei horizontal verlaufende Fäden, wodurch das Zählquadrat in vier über einander liegende, je $\frac{1}{4}$ cm grosse Felder zerlegt wird. Ausserdem kann von oben her eine dünne Platte bis zu den Fäden hineingeschoben werden, wodurch das Zählquadrat in zwei neben einander liegende gleich grosse Abtheilungen zerfällt. Die auf dem Gläschen ruhende Fläche des Zählquadrates ist der Wölbung des Glases entsprechend ausgehöhlt und mit einem kleinen Gewicht beschwert, um das Andrücken stets zu besorgen (*g*).

Nachdem bei Nr. 10 die Colonieen ausgezählt worden sind, wird das Zählquadrat nach 9 gerückt und so weiter, bis alle zehn neben einander liegende Quadrate, die zusammen einen 10^{cm} langen Streifen bilden, ausgezählt sind, dann wird das Zählquadrat zurückgeschlagen, das Röhrchen mit der Metallhülse um 36° gedreht, so dass der nächstfolgende Streifen nach oben zu liegen kommt, das Zählquadrat wieder bis 10 zurückgeschoben und der nachfolgende Streifen durchgezählt (vergl. Tab. X). Bei Addition der ersten vertikalen Columne (mit 10 bezeichnet) erhalte ich die Summe der Colonieen im ersten 1^{cm} breiten Ringe neben der Halseinschnürung, durch Addition der obersten horizontalen Columne (mit 0 bezeichnet) erhalte ich die Summe der Colonieen im ersten 1^{cm} breiten Streifen, der meist mit dem grossen Durchmesser zusammenfiel, indem ich durch eine vorläufige Messung am Röhrchen zunächst diesen aufsuchte und dementsprechend die senkrechte Marke aufzeichnete.

Mit Hülfe dieses Zählapparates wurde es mir möglich, genau an derselben Stelle, an der ich die Messung am Gläschen ausgeführt hatte, auch mein Zählquadrat einzustellen und ebenso leicht war es, jedes beliebige Quadrat am Röhrchen wieder einzustellen und zum zweiten Mal durchzuzählen.

Endlich sei noch erwähnt, dass ich unter die horizontale Platte ein Dreieck unterschob, wodurch dieselbe wie ein Objecttisch am Mikroskop umgelagert wurde. Das lästige Hinüberbeugen des Kopfes beim Zählen wurde mehr oder weniger vermieden.

Die Resultate fortgesetzter Messungen der äusseren Durchmesser und der Wandstärke ergeben zunächst dass kein Röhrchen dem anderen voll-

kommen gleicht, wohl aber erkennt man einen Typus, der darin besteht, dass sich erstens das Röhrchen von der Kuppe beginnend im cylindrischen Theil zu erweitern beginnt, um 2, 3 bezw. 4^{cm} von der Kuppe entfernt den grössten Umfang anzunehmen, worauf eine langsamere Abnahme des Umfanges bis zum Propftheil folgt, und zweitens dass die Wandung in einigen Fällen gleich im ersten Ringe nach der Kuppe, in anderen erst im zweiten und dritten bezw. dritten und vierten am dicksten ist.

Da nun der innere Durchmesser (äusserer Durchmesser — Wandstärke) die Vertheilung der Gelatine auf die Ringe bezw. Streifen vor Allem beeinflussen muss, habe ich denselben von Centimeter zu Centimeter festgestellt, daraus einen mittleren inneren Durchmesser für's ganze Röhrchen ermittelt und mit diesem = 1000 gesetzten Mittel die Durchmesser der einzelnen Ringe verglichen und dadurch Verhältnisszahlen erhalten, die mit den in demselben Ringe ausgezählten Colonieen verglichen werden konnten. Durch Aufzeichnen von Curven für beide Reihen von Beobachtungen liess sich ein Parallelismus bezw. Antagonismus leichter feststellen (vgl. S. 532).

Das Verhalten des inneren Durchmessers zeigt nun bei den verschiedenen Röhrchen mancherlei Schwankungen, doch erkennt man gleichfalls einen Typus und zwei seltenere Abarten. Dem Typus entspricht es, dass (Nr. 15 Tab. III) der innere Durchmesser vom ersten zum zweiten Ringe abnimmt und im ersten bisweilen, im zweiten ohne Ausnahme, unter dem mittleren Durchmesser des Röhrchens liegt. Vom dritten Ringe an steigt der Durchmesser stetig, schneidet zwischen drittem und viertem Ringe die Mittellinie, erreicht zwischen fünftem und siebentem Ringe das Maximum, fällt darnach ebenso rasch wieder, schneidet zum zweiten Mal die Mittellinie zwischen dem siebenten und neunten Ringe, um am Ende des Cylinders wiederum ohne Ausnahme unterhalb der Mittellinie zu liegen. Die Verengerung am zweiten Ringe, die mit einer Dickenzunahme der Wandung combinirt ist, ist wohl auf das Zuschmelzen des ursprünglich cylindrisch geformten Glasrohres zurückzuführen. Da sich der Glas-cylinder während des Umformens zum Reagensgläschen bis in den mittleren Theil stark erwärmt, scheint die Wandung gleichzeitig an Dicke zuzunehmen, ohne dass sich der äussere Durchmesser wesentlich zu ändern braucht. In Folge dessen resultirt ein Röhrchen, dessen innerer Durchmesser im mittleren Theil am weitesten, an beiden Enden dagegen verjüngt ist.

Die häufigere Abart zeigen diejenigen Röhrchen (Nr. 19 Tab. III), die eine ungewöhnlich weite Kuppe besitzen, indem die Wandung des Glases anstatt 1^{mm}, wie in den typischen Fällen, nur 0.5^{mm} beträgt. Solche Röhrchen besitzen wohl auch eine mittlere Anschwellung, doch

überwiegt der Durchmesser im Kuppentheile so bedeutend, dass bei graphischer Darstellung eine Curvenlinie resultirt, die in den ersten

Nr. 1. Röhrchen Nr. 16.
Vertheilung der Colonieen auf die Ringe.

Ringen über dem Mittel, in den letzten unter demselben liegt und somit der Cylinder an der Kuppe am weitesten, am Pfropftheil am engsten erscheint.

Eine zweite seltenere Abart entsteht dann, falls das Röhrchen (Nr. 14 Tab. III) von der Kuppe bis zum Pfropftheil einen fast gleichen äusseren Durchmesser besitzt, während die Wandung im Kuppentheil ungewöhnlich dick (über 1 mm) ist und von dort aus allmählich gegen den Pfropf abnimmt. Bei der graphischen Darstellung des inneren Durchmessers erhält man eine Linie, welche, umgekehrt wie bei der ersten Abart, an

Nr. 2.

Vertheilung der Colonieen auf die Ringe vor und nach dem Umformen der Kuppe.

der Kuppe unter dem Mittel beginnend die Mittellinie zwischen dem dritten und vierten Ringe schneidet und nun bis zum Pfropf über derselben verläuft.

Inwieweit nun das Verhalten des inneren Durchmessers die Menge der Colonieen in den einzelnen Ringen des Röhrchens beeinflusst, mögen folgende drei Beispiele zeigen:

Tabelle III. Verteilung der Colonieen nach Ringen.
Typisches Röhren Nr. 15.

	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
Aeusserer Durchmesser.	Absolute Zahl	31·10 ^{cm}	31·25	31·40	31·63	31·75	31·75	31·75	31·63	31·50
„	Mittel = 1000	986	990	995	1003	1006	1006	1006	1003	998
Wandstärke.	Absolute Zahl	0·50 ^{cm}	0·55	0·60	0·60	0·65	0·68	0·80	0·95	0·60
„	Mittel = 1000	720	790	870	870	940	980	1150	1370	870
Innerer Durchmesser	Absolute Zahl	30·60 ^{cm}	30·70	30·80	31·03	31·10	31·07	30·95	30·80	30·90
„	Mittel = 1000	991	995	998	1006	1009	1008	1003	998	1002
Colonieen	Mittel = 1000	886	964	1018	1118	1104	1104	1068	882	1006
Falsche Einstellung des Röhrens		790	910	1070	920	1180	1060	1050	870	1240

B. KÖRPER:

Atypisches Röhren Nr. 19.

Aeusserer Durchmesser.	Absolute Zahl	31·15	31·37	31·53	31·60	31·62	31·65	31·75	31·75	31·65	31·70
„	Mittel = 1000	987	998	998	1001	1002	1003	1005	1005	1003	1004
Wandstärke.	Absolute Zahl	0·45	0·48	0·50	0·52	0·52	0·55	0·58	0·62	0·55	0·40
Innerer Durchmesser	Absolute Zahl	30·70	30·90	31·03	31·08	31·10	31·10	31·18	31·13	31·10	31·30
„	Mittel = 1000	989	995	999	1000	1001	1001	1004	1002	1001	1008
Colonieen.	Mittel = 1000	832	994	1044	1026	1030	1024	1020	1000	1000	1052

Atypisches Röhren Nr. 14.

Aeusserer Durchmesser.	Absolute Zahl	31·35	31·45	31·45	31·50	31·60	31·57	31·60	31·67	31·63	31·63
Wandstärke	„	0·50	0·55	0·60	0·60	0·65	0·70	0·80	0·95	1·15	1·15
Innerer Durchmesser.	„	30·85	30·90	30·85	30·90	30·95	30·87	30·80	30·72	30·48	30·48
„	Mittel = 1000	1003	1004	1003	1004	1005	1003	1000	998	990	990
Colonieen.	Mittel = 1000	1040	1086	1126	1144	1124	1090	1020	948	786	636

Zwischen äusserem Durchmesser bzw. Wandstärke und Colonieenzahl ist ein Parallelismus nicht zu constatiren, wohl aber besteht ein ähnliches Verhalten zwischen innerem Durchmesser und Colonieenzahl (vergl. Curve). Beide Linien schneiden die Mittellinie bei den typischen Röhrchen (Nr. 15 bzw. Nr. 16) nahe an derselben Stelle einmal zwischen 3 und 4 und zweitens zwischen 7 und 8, nur erhebt sich die Curvenlinie der Colonieen im mittleren Theil (Ring 3 bis 7) relativ viel stärker als die Curvenlinie des inneren Durchmessers. Da sich beide Erscheinungen bei allen Versuchsreihen in allen Röhrchen wiederfinden, so muss eine Beziehung zwischen dem inneren Durchmesser und der Colonieenzahl bestehen, doch müssen noch andere Momente gleichfalls einen Einfluss auf die Vertheilung der Colonieen bzw. der Gelatine ausüben. Als weitere Incongruenz zwischen Durchmesser und Colonieenzahl ist die Erscheinung anzuführen, dass sich im Kuppentheil relativ weniger, im Pfropftheil relativ mehr Colonieen finden, als dem in beiden Fällen unter dem Mittel liegenden Durchmesser entsprechend zu erwarten gewesen wäre (vergl. Curve) und spricht auch dieser Umstand dafür, dass ausser dem inneren Durchmesser noch andere Factoren bestimmend auf die Vertheilung der Gelatine einwirken müssen. Bei den atypischen Röhrchen ist der Einfluss des inneren Durchmessers auf die Colonieenzahl wiederum unverkennbar. In Nr. 19 Tab. III (weiter Kuppentheil) ist eine Anhäufung im Kuppentheil, speciell im ersten Ringe, in Nr. 14 (enge Kuppe und weiter Pfropftheil) eine sehr starke Verminderung im Kuppentheil bei starker Anhäufung im Pfropftheil sehr deutlich.

In Tabelle IV lasse ich für die Röhrchen 15, 19 und 14 als Paradigmata die Abweichungen der Verhältnisszahlen vom Mittel sowohl für den inneren Durchmesser wie auch für die Colonieenzahl für jede der fünf Versuchsreihen folgen, während ich für die übrigen Röhrchen nur das Mittel aus allen fünf Versuchsreihen angebe. Ein gewisser Parallelismus besteht, wenngleich noch keine Congruenz.

Tabelle IV. Vertheilung der Colonieen nach Ringen.
Nr. 15.

Abweichung d. Colonie vom Mittel = 100	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
24./XII.	87	95	108	116	100	110	101	84	99	100
30./III.	88	92	103	115	115	113	105	88	82	99
17./III.	92	109	104	111	111	100	102	89	89	93
6./III.	82	98	100	111	114	115	111	88	78	103
16./II.	94	88	94	106	112	114	115	91	78	108
Mittel	88.6	96.4	101.8	111.8	110.4	110.4	106.8	88.0	85.2	100.6
Inn. Durchm.	991	995	998	1006	1008	1007	1003	998	993	1001

Nr. 19.

Abweichung d. Colonie vom Mittel = 100	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
24./XII.	93	96	100	105	102	101	103	95	102	104
30./III.	81	102	99	95	104	96	104	101	107	111
17./III.	76	95	104	109	106	104	103	94	101	103
6./III.	83	100	113	98	103	114	102	103	83	101
16./II.	83	94	106	106	100	97	93	107	107	107
Mittel	83.2	99.4	104.2	102.6	103.0	102.4	102.0	100.0	100.0	105.2
Inn. Durchm.	989	995	999	1000	1001	1001	1004	1002	1001	1008

Nr. 14.

24./XII.	103	101	111	118	120	111	105	98	75	58
30./III.	102	110	115	116	115	106	102	86	82	66
17./III.	104	110	118	107	117	103	101	95	87	58
6./III.	108	110	121	108	107	108	89	104	81	64
16. II.	103	112	98	123	103	117	113	91	68	72
Mittel	104.0	108.6	112.6	114.4	112.4	109.0	102.0	94.8	78.6	63.6
Inn. Durchm.	1003	1004	1003	1004	1005	1003	1000	998	990	990

Nr. 11.

Colonieen	98.2	100.4	110.4	104.2	108.8	101.8	104.6	100.2	82.2	89.2
Durchmesser	996	999	999	1001	1003	1004	1004	1001	993	1000

Nr. 12.

Colonieen	92.2	98.6	104.2	110.0	105.6	102.4	105.2	98.4	87.6	95.8
Durchmesser	993	996	999	1004	1003	1003	1001	999	998	1004

Nr. 13.

Colonieen	84.0	95.4	100.2	109.2	107.2	99.6	100.0	104.8	96.2	103.4
Durchmesser	994	996	998	1001	1001	1001	1002	999	999	1008

Nr. 16.

Colonieen	93.4	95.2	103.2	112.4	124.6	114.6	101.6	84.8	79.8	90.4
Durchmesser	997	996	999	1005	1011	1010	1005	992	986	999

Nr. 17.

Colonieen	102.0	120.6	120.0	111.0	111.8	110.8	98.4	80.8	62.4	82.2
Durchmesser	999	1000	1000	1004	1006	1008	1005	995	987	995

Nr. 18.

Colonieen	99.2	100.2	101.6	103.6	109.4	108.8	106.0	98.6	86.0	88.6
Durchmesser	997	997	998	1000	1003	1003	1005	1001	996	999

Nr. 20.

Colonieen	98.4	102.8	107.6	108.4	109.4	105.8	102.6	90.4	78.8	93.8
Durchmesser	997	997	1001	1003	1005	1004	1003	997	993	1000

Die Stellen, wo gezählt worden ist, sind durch einen senkrechten bew. horizontalen Strich markirt. In den typischen Röhrchen darf bei 4, 5, 6 und 7 nicht gezählt werden, weil sich hier stets eine Anhäufung von Gelatine findet, ebenso wenig bei 2 und 10 aus dem entgegengesetzten Grunde (eine Ausnahme bildet Ring 10 Röhrchen 17 mit einem inneren Durchmesser von 999 und 102.0 Colonieen). Weiter erkennt man, dass man im Kuppentheil bei 3 oder 4 bezw. zwischen beiden Ringen am sichersten darauf rechnen kann, eine Stelle ausgewählt zu haben, an der sich eine mittlere Menge von Colonieen finden wird (Ausnahme Röhrchen 13, wo sich im Ringe 3 noch 104.8 Colonieen finden). Im Pfropftheil ist die auszuwählende Stelle grösseren Schwankungen unterworfen und lässt sich nur behaupten, dass, je weiter der Durchmesser, desto näher zum Pfropf gezählt werden muss. Vor den 10^{cm} langen Röhrchen habe ich 12^{cm} lange, mit einem Umfang von 10^{cm} im Gebrauch gehabt, deren Quadratoberfläche 120^{cm} betrug. Auch bei diesen wurden alle Quadrate durchgezählt, Reihenbeobachtungen angestellt und die Colonieen mit dem inneren Durchmesser für jeden einzelnen Ring verglichen. Als Beispiel führe ich Röhrchen Nr. 20 an:

Ringe . . .	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
Colonieen .	86	81	82	99	105	112	126	130	109	85	87	98
Durchmesser	993	994	996	1000	1004	1005	1005	1004	1002	1001	995	1001

Die Curvenlinien der Colonieen und des Durchmessers schneiden gleichfalls die Mittellinie beim Uebergang des mittleren Theils in den Kuppen- und Pfropftheil und annähernd an denselben Stellen liegen Quadrate mit mittlerer Keimzahl also zwischen 3 und 4 und 8 und 9.

Weiter werden bei mir vielfach 12.5^{cm} lange Röhrchen mit 8^{cm} Umfang, deren Oberfläche wiederum 100^{cm} beträgt, benutzt, doch ist meine Leere nicht so eingerichtet, dass ich den inneren Durchmesser und die Form des Querschnittes bestimmen konnte.

Ich führe daher nur die Abweichungen vom Mittel für die Colonieen in den 12 Ringen aus einer Beobachtungsreihe vom 16./II. an:

Ringe . . .	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
Colonieen .	104	107	99	101	96	101	102	104	95	98	98	96

aus der hervorzugehen scheint, dass diese Röhrchen regelmässiger geformt sind, denn die Abweichungen vom Mittel sind geringer. Man könnte an drei Stellen darauf rechnen, Quadrate mit einer mittleren Coloniezahl anzutreffen und zwischen 2 und 3, 6 und 7 und 9 und 10 zählen; doch ist die Zahl der Beobachtungen für diese Röhrchen nicht gross genug, um

behaupten zu können, dass die Stellen mit mittlerer Keimzahl stets dieselben bleiben werden.

Weiter habe ich an einem 10^{cm} langen Röhrchen die Ausmessung mit der Leere von 0.5 zu 0.5^{cm} ausgeführt und gleichzeitig auch die Colonieen für je 0.5^{cm} ausgezählt. Die Mittelzahlen aus fünf Beobachtungsreihen sind in Tabelle V zusammengestellt:

Tabelle V.

Nummer	Colonieen		Innerer Durchmesser	
	$\frac{1}{2}$ qcm	1 qcm	$\frac{1}{2}$ cm	1 cm
10	103	103.4	999	999.5
	104		1000	
9	109	108.1	1000	1000.0
	107		1000	
8	107	107.7	1000	1001.0
	109		1002	
7	116	119.8	1003	1004.5
	123		1006	
6	117	117.2	1008	1007.5
	118		1007	
5	108	109.6	1006	1005.5
	111		1005	
4	107	102.1	1003	1002.5
	97		1002	
3	87	87.0	999	997.5
	87		996	
2	77	74.0	992	995.0
	71		988	
1	75	71.2	989	992.0
	67		995	

Das Röhrchen gehört zu denjenigen mit engem Pfropftheil und relativ weitem Halstheil, daher zwischen 3 und 4 und bei 10 gezählt werden muss, um Quadrate mit mittlerer Coloniezahl zu finden. Die Curvenlinien schneiden nur im Kuppentheil die Mittellinie, verbleiben dann über derselben und nähern sich erst am Ende des Röhrchens wiederum letzterer. Da die mühsame Arbeit des Ausmessens keinerlei Resultate ergab, die nicht auch beim Ausmessen von 1^{cm} zu 1^{cm} erlangt worden waren, so habe ich den Versuch nicht wiederholt.

Wenn auch das Centrifugiren keine vollkommen gleichmässige Vertheilung der Gelatine auf die zehn Ringe des Röhrchens bewirkt, so ist doch ein Fortschritt zum Besseren beim Vergleich mit den mit der Hand gedrehten Röhrchen nicht zu verkennen, wie aus folgendem Beispiel zu ersehen.

An zwei Röhrchen, Nr. 7 und 2, habe ich zunächst aus einer Reihe von Beobachtungen die Vertheilung der Colonieen auf die zehn Ringe nach dem Centrifugiren ermittelt und dieselben Röhrchen sodann gleichfalls in den Rotationsapparat gebracht, jedoch die Drehung nicht mit dem Riemen, sondern mit den Fingern besorgt. Schon mit blossen Auge liess sich eine weniger gleichmässige Vertheilung der Gelatine erkennen. die Stellen, wo sich eine Anhäufung der Gelatine bzw. der Keime fand, sind unterstrichen.

Tabelle VI.
Vertheilung der Colonieen nach Ringen.

Nr. 7	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
Centrifugirt	100	103	110	114	109	109	94	88	80	93
Mit den Fingern rotirt .	<u>104</u>	95	109	<u>114</u>	107	<u>114</u>	81	<u>96</u>	92	88
Innerer Durchmesser . .	997	999	1002	1007	1006	1001	997	996	994	1000
Nr. 2.										
Centrifugirt	95	104	108	109	114	115	116	103	74	62
Mit den Fingern rotirt .	91	100	<u>105</u>	99	91	<u>128</u>	106	<u>108</u>	93	87
Innerer Durchmesser . .	994	996	1000	1002	1003	1005	1010	1005	994	990
Nr. 1										
Centrifugirt	102	95	93	117	123	122	100	82	76	90
Mit den Fingern rotirt .	67	74	69	124	127	116	90	87	115	131
Innerer Durchmesser . .	996	993	994	1003	1010	1008	1003	1000	994	999

Zwischen der Vertheilung der Colonieen und dem inneren Durchmesser findet sich in den centrifugirten Röhrchen ein Parallelismus, in den mit den Fingern rotirten fehlt er. In Nr. 7 finden sich vier, in Nr. 2 drei Ringe und verändern dieselben in ein und demselben Röhrchen bei verschiedenen Versuchen ihre Stelle, so dass eine Vorherbestimmung der Quadrate, die gezählt werden sollen, unmöglich ist. Zehn Quadrate reichen daher nicht aus, um ein brauchbares Mittel zur Berechnung der Totalsumme der Keime im ganzen Röhrchen zu liefern, es müssen mehr Quadrate ausgezählt werden.

Da das Anfassen mit den Fingern möglicher Weise die Veranlassung gewesen war für das Auftreten der Gelatineanhäufung, stellte ich folgenden Versuch an: An mehreren Röhrchen wurde zunächst wiederum durch eine Reihe von Versuchen die Vertheilung der Colonieen festgestellt und sodann ein bestimmter, 3^{cm} breiter Theil des Röhrchens mit einem wollenen, aus kochendem Wasser entnommenen Lappen rasch umwickelt,

darnach das Röhrchen unter Eiswasser centrifugirt und die Colonieen in den einzelnen Ringen gezählt. Ich habe durchaus keinerlei Aenderung in der Vertheilung der Gelatine und keine Andeutung von Ringbildung auftreten sehen. Als Beleg mögen die Röhrchen 10, 7 und 2 (vergl. Tabelle V und VI) dienen und gebe ich die Verhältnisszahlen nur für den umwickelten Theil des Röhrchens wieder:

	Nr. 10			Nr. 7			Nr. 2		
	5	4	3	8	7	6	7	6	5
Vor dem Umwickeln	109·6	102·1	87·0	110	114	109	109	114	115
Umwickelt	115·0	96·0	82·0	100	113	103	104	115	120

Eine grosse Reihe von Belegen könnte ich endlich auch noch dafür beibringen, dass die Reibung an den Unterstützungspunkten oder am Riemen gar keinen Einfluss auf die Vertheilung der Gelatine im Röhrchen gehabt hat, doch genügt es, darauf hinzuweisen, dass der Transmissionsriemen am Ringe 5 anfasste und die Unterstützungspunkte durch die Träger auf die Ringe 9 und 2 fielen.

Komme ich nun noch einmal auf die Frage zurück, wo gezählt werden muss, so lässt sich nur sagen, dass als bestimmender Factor für die Vertheilung der Gelatine im Röhrchen der innere Durchmesser anzusehen ist, dass aber noch andere Momente eine so grosse Rolle spielen, dass dieser Einfluss wesentlich modificirt und verdeckt wird. Eine für alle Röhrchen zutreffende Vorherbestimmung dieser Stellen ist daher nicht möglich.

Einen weiteren Einblick in die Vertheilung der Gelatine im Röhrchen erhält man auch, wenn man die zehn neben einander liegenden einen Streifen bildenden Quadrate berücksichtigt, die zusammen eine gleich grosse Oberfläche besitzen, wie jeder der Ringe, von denen bisher die Rede gewesen. Die zehn Summanden habe ich wiederum mit dem = 100 gesetzten Mittel verglichen. Auch diese Verhältnisszahlen weichen mehr oder weniger vom Mittel nach beiden Seiten ab und wiederholt sich das oben erwähnte Gesetz, dass dem grösseren Durchmesser die grössere Colonieenzahl und umgekehrt entspricht, und weiter zeigt es sich auch hier, dass innerhalb beider Erscheinungen (Durchmesser und Colonieen) nur eine Aehnlichkeit jedoch keine Congruenz besteht, insofern die Anhäufung der Colonieen relativ grösser, bezw. kleiner ist, als dem Durchmesser entsprechend zu erwarten wäre. Weiter zeigt es sich beim Vergleich einzelner Röhrchen mit einander, z. B. Nr. 11 und 16, Tabelle VII, dass die Differenz in der Colonienzahl um so grösser ausfällt, je grösser die Differenz zwischen kleinem und grossem Durchmesser ist (vgl. auch Tab. IX).

In Tabelle VII stelle ich zunächst für Röhrchen 11 und 16 die Verhältnisszahlen für die Colonieen in fünf Versuchsreihen zusammen, aus denen je ein Mittel für die zehn Durchmesser gezogen ist.

Tabelle VII. Vertheilung der Colonieen nach Streifen.
Nr. 11.

Durchmesser	Nr. 11.					Nr. 16.				
	gross	mittel	klein	mittel		gross	mittel	klein	mittel	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
24./XII.	106	99	97	91	97	103	106	97	104	100
30./III.	105	104	95	104	103	104	97	98	91	99
17./III.	98	105	103	99	106	91	102	95	95	106
6./III.	104	90	101	118	95	101	102	94	90	105
16./II.	105	99	90	99	95	106	93	107	95	111
Mittel	103·6	99·4	97·2	102·2	99·2	101·0	100·0	98·2	95·0	104·2
+ (5—9)	101·0	100·0	98·2	95·0	104·2					
Mittel	102·3	99·7	97·7	98·6	101·7	Differenz 4·6 Procent.				

Nr. 16.

24./XII.	103	96	79	84	118	124	103	89	96	103
30./III.	111	104	90	79	113	118	99	84	91	111
17./III.	114	112	87	85	112	106	93	87	102	102
6./III.	115	107	89	82	113	107	88	98	101	100
16./II.	111	108	78	90	105	116	97	97	96	102
Mittel	111·8	105·4	84·6	84·0	112·2	114·2	96·0	91·0	97·2	103·6
+ (5—9)	114·2	96·0	91·0	97·2	103·6					
Mittel	113·0	100·7	87·8	90·6	107·9	Differenz 25·2 Procent.				

Da die bei 0 und 5, 1 und 6 u. s. w. gezählten Colonieen an den beiden Polen ein und desselben Durchmessers liegen, so habe ich beide Zahlen in der untersten Reihe von Tabelle VII addirt und aus ihnen wieder das Mittel gezogen. Die Differenz zwischen der Colonieenzahl im grössten und kleinsten Durchmesser beträgt bei Nr. 11 4·6 Procent, bei Nr. 16 25·2 Procent, die Differenz zwischen dem grossen und kleinen Durchmesser dagegen nur 5 p. m., bezw. 28 p. m. (Tab. IX). Demnach ist der Unterschied in der Colonieenzahl zehnmal grösser als entsprechend dem Durchmesser zu erwarten war.

In Tabelle VIII habe ich für die übrigen acht Röhrchen nur die durch Addition der an beiden entgegengesetzten Polen gelegenen Colonieen in ihrer Abweichung vom Mittel und die Differenz der Colonieen zwischen grossem und kleinem Durchmesser in der letzten Spalte notirt und endlich in Tabelle IX für alle zehn Röhrchen einerseits die absoluten wie relativen Grössen für den mittleren grossen und mittleren kleinen Durchmesser, andererseits die Differenz in der Colonieenzahl für den grossen und kleinen

Tabelle VIII.

Vertheilung der Colonieen auf die Durchmesser.

Durchmesser	gross		mittel		klein	mittel		Differenz
Mittel aus 5 Beobachtg.	0 + 5	1 + 6	2 + 7	3 + 8	4 + 9			
Nr. 12	105.8	96.2	90.0	100.9	107.1	17.1 Proc.		
„ 13	106.6	93.7	97.0	100.5	102.2	12.9 „		
„ 14	107.3	102.2	96.6	91.0	102.9	16.3 „		
„ 15	102.8	97.0	95.8	98.8	105.6	9.8 „		
„ 17	101.2	105.3	100.7	98.0	94.8	10.5 „		
„ 18	107.2	101.5	98.1	92.6	100.6	14.6 „		
„ 19	103.6	100.3	98.4	98.2	99.5	5.4 „		
„ 20	105.0	99.0	95.4	98.3	102.3	9.6 „		

Durchmesser zusammengestellt und für beide Reihen je nach der Grösse eine Stufenleiter notirt. In beiden Reihen ist die Platznummer der Röhren dieselbe, d. h. je grösser die Differenz in den Durchmessern eines Röhrens desto bedeutender weichen die Colonieen nach beiden Seiten vom Mittel ab.

Tabelle IX.

Nummer	Durchmesser				im Mittel		Colonieen	
	Absolute Zahl		Relative Zahl Mittel = 1000		Differenz p. M.	Reihen- folge	Differenz Procent	Reihen- folge
	gross	klein	gross	klein				
11	30.98 cm	30.82	1002	997	5	1	4.6	1
12	31.04	30.39	1010	990	20	9	17.1	9
13	31.05	30.78	1004	996	8	4	12.9	6
14	31.10	30.46	1010	990	20	8	16.3	8
15	31.04	30.68	1006	994	12	5	9.8	4
16	31.31	30.47	1014	986	23	10	25.2	10
17	31.01	30.62	1006	994	12	6	10.5	5
18	31.22	30.79	1007	993	14	7	14.6	7
19	31.15	30.98	1003	997	6	2	5.4	2
20	30.85	30.61	1004	996	8	3	9.6	3
8	31.34	30.78	1010	990	20		30.0	

Diese Abweichungen fallen noch grösser aus, wenn man entsprechend der Drehung der grossen und kleinen Durchmesser, in Form einer Spirale zehn Quadrate am Gläschen abzählt. Schreitet man beim Zählen in gerader Linie von der Kuppe bis zum Pfropf vor und beginnt man an der Kuppe in einem grossen Durchmesser, so wird man an dem Pfropftheil meist in einem kleinen Durchmesser endigen, denn die Drehung der Durchmesser beträgt oft 90°. In Folge dieses Umstandes muss sich der Unterschied in der Menge der gezählten Colonieen in den verschiedenen Durchmessern ausgleichen. In seltenen Fällen wie bei Nr. 8 Tabelle IX, wo sich die Durchmesser fast gar nicht drehen, da betrug bei einer Differenz von 20 p. m. zwischen grossem und kleinem Durchmesser die Differenz in den Colonieen 30 Proc. Aus Tabellen VII und VIII ist ersichtlich, dass die grossen und kleinen Durchmesser, d. h. die Anhäufung, bezw. Verminderung der Gelatine senkrecht auf einander stehen, wie sich dieses auch schon bei dem Ausmessen der Durchmesser mittelst der Leere ergeben hatte, nur Röhrechen 13 macht eine Ausnahme, indem die kleinste Zahl der Colonieen neben der grössten zu liegen kommt. Weiter erkennt man, dass die Gelatineanhäufung, die in den meisten Fällen bei 0 + 5 liegt, sowohl nach 4 + 9, bezw. 1 + 6 hinübrücken kann, in welchem Fall auch die geringste Gelatinemenge sich nach derselben Seite verschoben zeigt.

Zum Schluss füge ich noch Tabelle X hinzu, um die Vertheilung der Colonieen auf die 10 × 10 Felder eines Röhrechens vorzuführen. Die absoluten Zahlen entsprechen den 100 Quadraten, welche in den 5 Versuchsreihen in Nr. 15 gezählt worden sind. Die Summe der absoluten Zahlen ist für jede Beobachtungsreihe = 10 000 gesetzt, so dass bei ganz gleicher Vertheilung der Gelatine im ganzen Gläschen in jedem Quadrat 100 Colonieen hätten gezählt werden müssen.

Die fünf senkrecht über einander stehenden Zahlen sind Verhältnisszahlen und die rechts nebenbei verzeichnete ist das Mittel aus den fünf Beobachtungen. Abweichungen vom Mittel finden sich in jedem der 100 Quadrate. Die Maxima wie Minima in den senkrechten wie horizontalen Reihen folgen den früher erwähnten Gesetzen über die Vertheilung der Gelatine in den einzelnen Ringen und Streifen je nach dem Durchmesser. Die geringe Differenz von 1000·2, bezw. 1000·3 anstatt 1000·0 als Mittel der vertikal wie horizontal addirten Summanden ist auf Fehler bei der Correctur der mit Hülfe von Logarithmen berechneten Verhältnisszahlen zu beziehen. Die horizontalen Summanden, den zehn Ringen entsprechend, zeigen bedeutendere Abweichungen vom Mittel als die senkrechten, welche den zehn Streifen angehören. Diese Erscheinung ist auf die oben erwähnte Drehung der Durchmesser zu beziehen, die einen

Nr. 15.

Tabelle X. Vertheilung der Colonieen

Nummer	10	9	8	7	6
0	77	88	112	120	74
	94	89	83	103	109
	107 98.2	112 99.0	144 109.4	98 103.6	131 106.2
	125	113	113	86	80
1	88	93	95	111	137
	80	92	101	120	100
	94	78	68	73	94
	88 82.4	88 92.8	98 89.0	93 104.6	102 106.0
2	92	104	83	123	120
	58	102	95	109	114
	64	83	69	84	108
	68	52	103	109	63
3	51 64.8	88 84.8	74 87.8	88 94.8	102 98.8
	80	92	86	110	107
	61	109	107	83	109
	83	86	120	118	89
4	83	94	89	57	99
	84 88.4	116 101.6	121 111.2	102 99.0	93 95.0
	92	131	140	104	92
	100	81	86	114	102
5	97	108	114	111	98
	104	130	83	138	169
	102 103.2	102 112.6	70 109.6	84 113.0	107 125.0
	83	104	155	123	135
6	130	119	126	109	116
	92	100	122	141	100
	94	104	114	132	124
	98 88.4	93 95.2	77 102.4	150 133.6	112 116.2
7	65	98	104	119	129
	93	81	95	126	116
	76	83	86	112	117
	62	83	89	115	99
8	74 72.4	107 94.8	56 93.8	102 113.6	108 111.4
	92	122	101	123	107
	58	79	137	116	126
	97	98	111	128	118
9	115	73	103	115	89
	60 83.4	84 81.4	102 100.4	126 122.2	136 107.0
	68	89	98	119	92
	77	63	88	123	100
10	105	95	131	100	91
	120	115	99	103	148
	84 105.6	84 97.0	130 109.2	116 114.0	116 121.0
	110	110	86	107	145
11	109	81	100	144	105
	99	117	114	126	106
	109	62	103	109	120
	70 99.8	107 104.6	130 104.6	150 119.6	142 119.8
12	116	128	74	95	101
	105	109	102	118	130
Mittel aus den Ringen	88.7	96.4	101.7	111.8	110.6

auf die einzelnen Quadrate.

5	4	3	2	1	Mittel aus den Streifen
117	103	100	100	97	
103	141	83	84	103	
131 109.8	88 105.4	102 87.8	56 84.0	93 99.2	100.3
77	104	68	92	92	
121	91	86	88	111	
122	92	76	115	112	
99	138	68	52	124	
126 109.0	88 99.2	93 77.2	47 82.6	84 100.6	94.3
80	71	68	104	104	
118	107	81	95	79	
84	89	62	80	117	
109	138	89	84	169	
126 106.6	152 112.4	88 88.0	75 73.2	65 106.2	91.7
86	83	99	53	83	
128	100	102	74	97	
108	80	72	101	95	
94	120	63	90	120	
154 109.0	75 91.0	84 76.6	98 95.2	93 98.8	96.6
89	80	71	110	86	
100	100	93	77	100	
108	86	82	103	108	
89	94	148	90	103	
98 108.8	127 98.8	93 107.2	121 95.0	116 106.0	107.9
135	71	120	89	92	
114	116	93	72	111	
123	118	100	106	104	
83	132	83	78	103	
136 110.6	98 110.8	93 95.0	65 83.4	154 116.8	105.2
120	113	104	89	107	
91	93	95	79	116	
117	117	86	101	84	
148	73	89	103	83	
93 114.0	102 117.4	88 91.4	70 93.8	144 95.4	99.8
98	163	111	104	80	
114	132	83	91	86	
123	106	103	75	90	
109	132	94	42	109	
88 116.6	164 125.6	88 90.8	75 73.2	116 97.4	99.8
117	129	74	107	89	
146	97	95	67	83	
104	97	82	94	104	
115	103	89	84	78	
107 102.8	107 103.0	88 86.0	88 79.4	84 94.4	101.2
95	89	90	68	104	
93	119	81	63	102	
94	125	74	117	90	
193	89	104	73	89	
93 116.6	107 106.0	61 78.8	84 91.4	84 92.6	103.4
101	116	83	74	95	
102	93	72	109	105	
					1000.2
110.4	107.0	87.9	85.1	100.7	1000.3

ausgleichenden Einfluss ausübt. Von den in den fünf Versuchsreihen gezählten 500 Quadraten zeigen Abweichungen vom Mittel:

von	0 bis ± 10 Procent	. . .	37 Procent
„	± 10 „ ± 20	„ . . .	32 „
„	± 20 „ ± 30	„ . . .	15 „
„	± 30 „ ± 40	„ . . .	9 „
„	± 40 und mehr	„ . . .	7 „

Sowohl bei dem Auszählen der Colonieen in Ringen wie Streifen hat sich das übereinstimmende Resultat constatiren lassen, dass sich entsprechend den grösseren wie kleineren Durchmessern eine Vermehrung, bezw. Verminderung der Gelatine nachweisen liess, die jedoch den Durchmessern nicht congruent war, sondern recht bedeutend darüber hinausging. Zur Erklärung dürfte folgender Umstand vor Allem dienen. Hat man das mit flüssiger Gelatine gefüllte Gläschen in den Centrifugalapparat hinein gethan und liegt dasselbe horizontal, so sieht man die Gelatine mehr oder weniger weit in die Kuppe hineinragen. Wird das Röhrchen darauf centrifugirt, so zieht sich die Gelatine aus der Kuppe in den cylindrischen Theil zurück und misst der erstarrte Cylinder 10^{cm} , während die Flüssigkeit etwa 10.7^{cm} mass, ebenso scheint auch am Halse sich die Gelatine etwas gegen den mittleren Theil des Röhrchens zurückzuziehen, doch ist die Dislocation hier geringer, da sich das Röhrchen im Pfropftheil rascher verjüngt, indem die Ränder steiler abfallen als an der Kuppe. Die aus diesen Theilen verdrängte Gelatine scheint nun nicht in den zunächst liegenden Ring 1 zu gelangen auch nicht einmal im Kuppen-theil des Cylinders zu bleiben, denn in diesen Ringen finden wir noch weniger Colonieen, als entsprechend ihrem Durchmesser zu erwarten war, sondern in den mittleren Theil des Röhrchens zu gelangen, wo wir ja beständig eine Anhäufung der Gelatine angetroffen haben, welche über den entsprechenden Durchmesser hinausgeht. Hiermit stimmt eine andere Erscheinung überein. Lässt man das Rotiren des Gläschens ausserhalb der Wasserwanne ausführen, so dass man die Bewegung der Gelatine im Innern des Gläschens verfolgen kann, so gewahrt man, sobald die Centrifugalkraft zu wirken anfängt, eine wellenförmige Erhebung im centralen Theil des Gläschens entstehen, welche meistens zu beiden Seiten des Transmissionsriemens gelagert ist, manchmal aber auch aus zwei gesonderten Lappen zu beiden Seiten des Riemens besteht, endlich kann sich die Erhebung bald mehr auf der Seite der Kuppe bald wieder mehr auf der Seite des Propfes zeigen. Setzt man das Rotiren fort, so glättet sich diese Erhebung immer mehr und mehr, schwindet zunächst im Hals-theil und ist zuletzt mit dem Auge keine Ungleichmässigkeit in der Ver-

theilung der Gelatine zu bemerken. So erklärt sich die Anhäufung der Gelatine im mittleren Theil des Röhrchens. 0.5^{cem} Gelatine, die aus der Kuppe durchs Centrifugiren entfernt wird, würde vollauf genügen, um die Anhäufung der Colonieen im centralen Theil zu erklären. Durch die Ansammlung der Gelatine erklärt sich auch noch eine andere Erscheinung. Beim Durchzählen der zehn Streifen findet man häufig, dass sich auf der einen Hälfte des Gläschens von 0 bis 4 incl. mehr Gelatine vorfindet, wie auf der anderen 5 bis 9 incl. z. B. in Nr. 19 vom 30./III:

Streifen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Colonieen	105	103	100	109	104	94	97	98	94	96.

Die aus der Kuppe verdrängte Gelatine wird sich in den meisten Fällen allmählich über die Oberfläche des ganzen Röhrchens vertheilen, wird sie aber schon dickflüssig, ehe sie sich gleichmässig vertheilt hat, so kann sie möglichenfalls nur eine Hälfte oder nur einen Quadranten in dickerer Schicht bedecken, in welchem Fall dann eine Vermehrung der Colonieen an der entsprechenden Stelle gefunden werden müsste.

Weiter hat mich die Beobachtung belehrt, dass sich die wellenförmige Erhebung in verschiedenen Röhrchen in verschiedener Breite zeigt, aber auch in ein und demselben Röhrchen ändert sich die Breite wie die Stelle der Erhebung in verschiedenen Versuchsreihen. Dadurch erklärt es sich, warum sich der Ueberschuss von Gelatine in ein und demselben Röhrchen nicht bei allen Versuchsreihen vollkommen deckt. In Nr. 16 (vgl. Tab. IV) habe ich den zungenförmigen Lappen am häufigsten bei Ring 8, 7, 6. in Nr. 17 bei 9, 8, 7, in Nr. 19 bei 4, 3, 2, in Nr. 20 bei 7, 6, 5 beobachtet. Nr. 19 gehört zu den atypischen Röhrchen mit weiter Kuppe und dürfte die mehr ausnahmsweise im Kuppentheil auftretende Anhäufung der Gelatine auf diese Eigenthümlichkeit des Gläschens zurückzuführen sein. Nr. 16 und 20 gehören zu den typischen Röhrchen und scheint sich die Anhäufung der Gelatine bei diesen Röhrchen am häufigsten im centralen Theil auszubilden. Nr. 17 gehört auch zu den typischen Röhrchen, doch fällt beim graphischen Aufzeichnen der geringe Parallelismus zwischen der Linie der Colonieen und des inneren Durchmessers im Ringe 9 und 8 auf, wo sich in allen fünf Versuchsreihen eine unerwartet starke Anhäufung von Gelatine vorfand. Nach Analogie der anderen Röhrchen dürfte auch hier kein Zufall, sondern eine Besonderheit im Gläschen, welche möglicher Weise beim Erhitzen des Halstheils während des Umformens desselben zu Stande kam, als Ursache angenommen werden und wird diese Besonderheit wahrscheinlich in einer Erweiterung bestehen. Eine ähnliche Erklärung dürfte auch für Nr. 11 herbeigezogen werden, denn im Ring 8 findet sich eine gleichfalls mit dem Durchmesser nicht

übereinstimmende Gelatineanhäufung. Ueberhaupt dürfte die in allen Röhrechen im Pfropftheil beobachtete relative Anhäufung von Gelatine dadurch zu erklären sein, dass bei allen Röhrechen während des Erhitzens zum Behuf der Umformung des Halses eine, wenn auch nur äusserst geringe Verdünnung der Wandung mit gleichzeitiger Erweiterung des inneren Durchmessers zu Stande gekommen ist.

Einen Einfluss auf die ungleichmässige Vertheilung der Gelatine auf die einzelnen Ringe äussert auch, wenn gleich in viel geringerem Grade als ich erwartet hatte, die Verrückung des Gläschens aus der horizontalen Lage (vgl. Tab. III, Nr. 15 letzte Zeile „falsche Einstellung des Röhrechens“). Der Versuch wurde am 28./I. (vgl. Tab. I) ausgeführt und den zehn Röhrechen absichtlich eine solche Lage gegeben, dass die Gelatine bei einzelnen im Kuppentheil, bei anderen im Pfropftheil in dickerer Schicht angehäuft war. In Nr. 15 stand der Kuppentheil tiefer, so dass bereits mit blossen Auge die ungleichmässige Vertheilung zu bemerken war. Beim Vergleich der Verhältnisszahlen in beiden Reihen ist nur im ersten Ringe eine deutliche, im zweiten eine geringe Zunahme, im dritten bereits eine Abnahme zu bemerken und doch stand noch im dritten Ringe die Gelatineschicht weit höher, als bei wagerechter Einstellung möglich gewesen wäre. Auch aus dem Halstheil, falls dieser beim Versuch tiefer eingestellt worden war, wurde die Gelatine durchs Centrifugiren grössten Theils entfernt. Ganz anders verhielt sich ein Röhrechen, welches, aus der horizontalen Lage gebracht, mit den Fingern rotirt wurde (vgl. Tab. VI, Nr 1). Zu einer deutlichen ringförmigen Anhäufung der Gelatine kam es nicht, aber in den drei letzten Ringen (3, 2, 1) fand sich eine sehr bedeutende Vermehrung, in den drei ersten Ringen (10, 9, 8) eine sehr deutliche Verminderung der Gelatine, bezw. der Colonieen.

Da ich durch vorliegende Studie bewiesen zu haben glaube, dass die ungleichmässige Vertheilung der Gelatine beim Centrifugiren eine Folge der unregelmässigen Form der Gläschen ist, so konnte ich die Versuche abbrechen und würde es sich nur in dem Fall lohnen dieselben von Neuem aufzunehmen, falls es mir gelingen sollte, Röhrechen zu beschaffen, deren cylindrischer Theil von der Kuppe bis zum Halse denselben inneren Durchmesser bei vollkommener Kreisform des Querschnittes besitzen würden. Weiter müsste statt der halbkugeligen Kuppe ein mehr flacher Boden, wie bei einem Becherglase vorhanden sein und endlich bei der Halseinschnürung die Wände steil abfallen. Bei so beschaffenen Gläschen würde das zeitraubende Ausmessen mit der Leere fortfallen, mit Hülfe der Centrifuge würde man eine aufgerollte Platte erhalten mit voraussichtlich ganz gleichmässig dicker Gelatineschicht. Dann, glaube ich, müsste es ganz gleichgültig sein, an welcher Stelle gezählt werden würde, ebenso

würde eine geringere Zahl von Quadraten schon genügen, um ein Mittel zu erlangen, welches allen Anforderungen entsprechen müsste. Solch' ein Röhrchen würde auch bei verflüssigenden Colonieen den grossen Vorthail bieten, dass man zu einer Zeit noch quantitative Bestimmungen vornehmen könnte, wo sie gegenwärtig nicht mehr zulässig sind, denn wenn auch nur ein im oberen Streifen gelagertes Quadrat durch die verflüssigenden Colonieen nicht lädirt worden wäre, so könnte es zum Zählen benutzt werden, während gegenwärtig die Quadrate an verschiedenen Stellen des Gläschens ausgewählt werden müssen, um die ungleichmässige Vertheilung der Colonieen auszugleichen.

Die zehn Quadrate, welche ich in den centrifugirten Röhrchen zum Auszählen wähle, liegen in den vorher erwähnten Ringen und zähle ich in jedem je fünf Quadrate, indem ich im Pfropf — wie im Kuppentheil immer einen Streifen überspringe, also in dem einen Ringe entsprechend Streifen 0, 2, 4, 6 und 8, in dem anderen bei 1, 3, 5, 7 und 9.

Als Resultate dieser Studie möchte ich hervorheben:

1. Die Vertheilung der Keime in Erde und auch in gut geschütteltem Wasser ist eine gleichmässige, sofern Abweichungen bis zu 3 Procent bei einer quantitativen Bestimmung zugelassen werden, denn nach strengen Lehren der Wahrscheinlichkeitsrechnung ist dieser Betrag von 3 Procent Abweichung gerade von der Grösse, wie er bei einer völlig zufälligen Vertheilung zu erwarten ist.¹

2. Das Centrifugiren bedingt eine gleichmässigere Vertheilung der Gelatine im Röhrchen, als dieses beim Rotiren mit der Hand erreicht werden kann, auch wird der unvermeidliche Fehler in der Vertheilung der Gelatine bei nicht vollkommen horizontaler Lagerung des Röhrchens besser ausgeglichen.

3. Differenzen in den Mittelzahlen von mehr als ± 4 Procent, die aus Gläsern berechnet waren, welche mit dem Finger rotirt waren, können durch Eigenthümlichkeiten des Versuchsglases, oder fehlerhafte Lagerung während des Rotirens, bloss vorgetäuscht werden, indem die Quadrate zum Auszählen nicht an der richtigen Stelle gewählt wurden, oder zu wenig

¹ Wie mir Kenner der Wahrscheinlichkeitsrechnung sagen, ist Folgendes ein zweifelloses Resultat dieser Lehre: Wiederholt man 1000 mal je 100 Würfe „Schrift oder Adler“, so wird man nahezu 500 Fälle finden, wo Schrift und Adler innerhalb 47 und 53 liegen und nahezu ebenso viel Fälle ausserhalb der genannten Grenze.

Quadrate berücksichtigt wurden. Ein abermaliges Durchzählen an einer anderen Stelle des Gläschens oder die Berücksichtigung einer grösseren Zahl von Quadraten würde die scheinbare Abweichung aufdecken.

4. Beim Centrifugiren lagert sich die Gelatine entsprechend der Grösse des inneren Durchmessers auf die Ringe, entsprechend der Form des Querschnittes auf die Streifen im Röhrchen, die Kuppe bleibt völlig unbedeckt.

5. Bei centrifugirten Röhrchen genügt ein Auszählen von 10 Procent aller im Röhrchen vorhandenen Quadrate zur Ermittlung des richtigen Mittels. Diese Quadrate müssen jedoch an der richtigen Stelle ausgewählt sein.

6. Beim Centrifugiren der gewöhnlich im Handel vorkommenden Reagensgläser werden die Quadrate zum Auszählen beim Uebergang des mittleren Theils in die beiden Endtheile liegen und werden die aus solchen Gläsern berechneten Totalsummen um so besser übereinstimmen, je regelmässiger die Gestalt der Gläser ist.

7. Der Hauptfehler der käuflichen Reagensgläser besteht darin, dass sich

- a) ihr innerer Durchmesser im Verlaufe des Röhrchens ändert,
- b) dass der Querschnitt keinen Kreis, sondern ein Oval darstellt,
- c) dass alle Röhrchen eine Drehung um ihre Längsaxe besitzen.

Alle drei Fehler werden aller Wahrscheinlichkeit nach während des Zuschmelzens der Kuppe zu Stande gebracht.

8. Bei Röhrchen mit sich gleich bleibendem inneren Durchmesser, kreisförmigem Querschnitt, flachem Boden und steil verengtem Halse müsste die Vertheilung der Gelatine nach dem Centrifugiren eine völlig gleichmässige in allen Theilen des Röhrchens sein und könnte das Auszählen von Quadraten an jeder beliebigen Stelle des Röhrchens erfolgen und müsste eine geringere Zahl von Quadraten zur Berechnung des Mittels genügen.

Perlatz, im Juli 1893.

Nachtrag.

Aus der Sommerfrische zurückgekehrt, wollte ich noch einen Versuch machen, den störenden Einfluss der Gelatineanhäufung in der Kuppe zu eliminiren. Ich liess mir durch Hrn. Mechaniker Breeks die Kuppe meiner bisher benutzten Gläschen umformen. Nachdem das Glas in der Kuppe flüssig geworden war, stülpte sich dieser Theil nach innen um, so dass der Kuppentheil jetzt dem Boden einer Flasche glich. Da mehrere Gläschen dabei verunglückt waren, konnte ich nicht dieselben Röhrchen wie bisher benutzen, immerhin wurden zehn, wie früher angegeben, ausgerollt und durchgezählt. Da sich im Quadratcentimeter ca. 100 Colonieen fanden, nahm das Auszählen viel Zeit in Anspruch, gleichzeitig begann in Dorpat die Cholera, die mich gleichfalls in meiner freien Zeit beschränkte, so dass das Resultat dieser Versuchsreihe erst jetzt gezogen werden konnte.

Indem ich aus fünf Röhrchen von ähnlichem Durchmesser ein Mittel, sowohl für den inneren Durchmesser, wie die Colonieen bestimmte, suchte ich die zufälligen Abweichungen im einzelnen Röhrchen möglichst zu eliminiren. Darnach entwarf ich die graphische Darstellung Nr. 2 S. 533 dieser Arbeit. Die vor dem Umformen ermittelte Colonieenzahl weicht kaum von der nach dem Umformen ab: die Anhäufung im Centrum des Gläschens ist dieselbe geblieben, im Kuppentheil ist eine Abnahme nach dem Umschmelzen zu bemerken, die wohl auf eine Verengung des inneren Durchmessers während des Glühens zu beziehen sein dürfte.

Da bei diesen umgeformten Röhrchen die Gelatine während des Centrifugirens nicht aus der Kuppe herausgeschleudert werden konnte, weil ja die Kuppe fehlte, so müssen, wie schon früher erwähnt, noch andere Factoren ausser dem inneren Durchmesser auf die Vertheilung der Gelatine im Röhrchen bestimmend einwirken.

Ich bleibe daher bei meiner früheren Absicht, nur dann die Arbeit wieder aufzunehmen, falls ich Röhrchen erhalten könnte, welche die oben angegebenen Eigenschaften besitzen sollten.

December 1893.