

Methyl- : Aethyl- : Propyl- : Isoamylalkohol  
wie 5 : 4 : 3 : 1

Ein weiterer Zusammenhang besteht auch zwischen den erhaltenen Konstanten und der Oberflächenspannungsniedrigung ( $D_0$ ) der verdrängten oberflächenaktiven Substanz, was Tabelle VII zeigt.

Tabelle VII.

	$D_0$	$K/D_0$			
Phenol . . . .	20,1	1,32	0,95	0,63	0,23
Valeriansäure .	42,3	1,41	0,82	0,68	0,22
Thymol . . . .	16,4	1,04	0,69	0,41	0,16
Hämoglobin . .	11,4	1,05	0,77	0,45	0,11

Die Werte  $K/D_0$  sind also nur wenig von den einzelnen verdrängten Substanzen abhängig

und für die einzelnen Alkohole ganz charakteristische Konstanten.

Weitere Aufgabe wäre es nun, das Verhalten anderer homologer Reihen zu prüfen und die Gleichung in erster Linie nach der Richtung zu vervollkommen, daß auch die vollständige Verdrängung der einzelnen Substanzen berücksichtigt wird. Man müßte zu dem Zwecke zunächst die Abhängigkeit der vollständig verdrängenden Konzentration der einen Substanz von der Konzentration der anderen kapillaraktiven Substanz messen.

Diese Versuche wurden noch vor Ausbruch des Krieges gemacht, konnten aber seitdem durch die vorher erwähnten noch nicht ergänzt werden.

## Probleme der Bakterienadsorption.

Von H. Bechhold (Frankfurt a. M.).

(Eingegangen am 15. Mai 1918.)

Während des Krieges hat die Adsorptionstherapie eine umfassende und erfolgreiche Anwendung gefunden. Insbesondere Bolus und Kohle werden bei Erkrankungen des Magen-darmkanals angewendet<sup>1)</sup>. Man nimmt an, daß hier sowohl die Bakterien als auch deren Stoffwechselprodukte adsorbiert, aus dem Körper befördert oder fixiert und dadurch unschädlich gemacht werden. Bei Wunden soll sich Bolus als vorteilhaft erwiesen haben, ebenso bei Affektionen der Schleimhäute (Vagina). Die Gründe seiner Anwendung sind die gleichen wie bei Darmaffektionen. Neuerdings wird unter dem Namen „Incarbon“ von E. Merck sogar eine intravenös injizierbare Kohle in den Handel gebracht.

Es schien mir nun von Interesse, ob die Adsorptionswirkung eine rein physikalische Erscheinung sei, oder ob spezifische Unterschiede vorliegen, sowohl hinsichtlich des Adsorbens als des Adsorpts. Ich will damit folgendes sagen: Die Zahl der Adsorbentien, d. h. der pulverförmigen Stoffe mit stark entwickelter Oberfläche, die in Betracht kommen könnten,

ist eine sehr große. Es wäre denkbar, daß ganz indifferente Stoffe wie z. B. Kohle anders wirken als z. B. Ton oder Asbest, Wolle oder Seide. Ferner schien mir eine Angabe von R. Marc<sup>2)</sup> beachtenswert, welcher darauf aufmerksam gemacht hatte, daß kristallinische Stoffe Kolloide besser adsorbieren, während kolloide Stoffe stärkere Adsorptionswirkung auf Kristalloide ausüben. Wenn dies auch für unseren Fall zutreffen sollte, so könnte es empfehlenswerter sein, die amorphen Pulver wie Holzkohle z. B. durch feinstes Bariumsulfat oder dgl. zu ersetzen. Es war ferner daran zu denken, daß noch durch weitere Vergrößerung der Oberfläche, d. h. durch Verwendung von Gallerten, die Adsorptionswirkung gesteigert werden könnte.

Als Adsorpte verwendete ich Bakterien und wählte dazu zwei Arten, welche sowohl in ihren biologischen Eigenschaften als auch in ihrem gemutmaßten Oberflächencharakter vollkommen verschieden sind, nämlich Staphylokokken und Bakterium Coli. Der Staphylokokkus ist ein unbeweglicher Kokkus, der am besten auf einem schwach alkalischen Nährboden gedeiht, bei Gegenwart von Säure jedoch nicht weiter zur Entwicklung kommt. Bakterium Coli hingegen ist ein etwas beweglicher mit Geißeln versehener Bazillus, der nicht nur Zucker vergärt und bei dessen Anwesenheit Säure produziert, sondern auch selbst bei Gegen-

<sup>1)</sup> Die Verwendung von Mull und Watte in der Chirurgie ist ebenfalls eine Art unbewußter Adsorptionstherapie. Mit der bloßen Aufsaugung der Sekrete dürfte die Rolle des Mulls usw. kaum erschöpft sein; er dürfte vielmehr auch auf Bakterien und Stoffwechselprodukte adsorbierend wirken. Die Suche nach einem Ersatz mit ausgesprochener Adsorptionswirkung, als sie Baumwolle und Zellstoff besitzen, wäre nicht undankbar.

<sup>2)</sup> R. Marc, Koll.-Zeitschr. 13, 281 u. ff.

wart von Säure sich weiter lebhaft entwickelt. Der wesentliche Grund jedoch für die Wahl dieser Typen bestand darin, daß der Staphylokokkus Gram-positiv, Bakterium Coli jedoch Gram-negativ ist. Die Gramfärbung ist ein wichtiges diagnostisches Unterscheidungsmittel für Bakterien; sie besteht darin, daß die aufgetrockneten Bakterien zunächst in einer Lösung von Gentianaviolett gefärbt und dann mit einer Jodjodkaliumlösung (Lugol'sche Lösung) behandelt werden. Bringt man ein solches Präparat dann in Azeton-Alkohol, so gibt es Bakterien, welche den Farbstoff festhalten (Gram-positive); zu diesen gehören die Staphylokokken; während andere durch das Auswaschen mit Azeton-Alkohol entfärbt werden (Gram-negative); zu letzteren gehört unter anderen Bakterium Coli. Um diese dem Auge sichtbar zu machen, empfiehlt es sich, nachträglich eine Kontrastfärbung vorzunehmen, zu der sich Bismarckbraun eignet. Es hat sich nun auf Grund zahlreicher Untersuchungen ergeben, daß diese Verschiedenheit nicht nur ein zufälliges äußeres Merkmal ist, sondern auf grundsätzliche Verschiedenheit der Oberflächenschicht zurückzuführen ist, die im ersten Fall eine schwerere Aufnahme des Farbstoffes und ein besseres Festhalten bedingt als im letzteren Falle.

#### Qualitative Versuche.

#### Färberische Darstellung der Adsorption.

Um zunächst einen Ueberblick zu gewinnen, ob Unterschiede zwischen den Adsorbentien und

der Adsorption von Staphylokokken und Bakterium Coli vorliegen, wurden Färbemethoden ausgearbeitet, welche bereits aus dem mikroskopischen Bild ein Urteil gestatten sollten, ob Adsorption eingetreten ist, ob diese beträchtlich oder gering ist. Das mikroskopische Bild mußte zeigen, ob die Hauptmasse der Bakterien sich an der Oberfläche der Adsorbentien angehäuften hatte, oder ob auch in den freien Räumen zwischen dem Adsorptionsmittel reichlich Bakterien vorhanden waren.

Die Versuche wurden möglichst der Praxis dadurch angepaßt, daß das Adsorbens zwar stark im Ueberschuß genommen wurde; aber auch von den Bakterien wurden ungewöhnlich dichte Aufschwemmungen gewählt.

Es wurden Aufschwemmungen der Pulver hergestellt, welche auf ein Gewichtsteil Pulver drei Gewichtsteile Wasser enthielten. Die Bakterienaufschwemmungen bestanden aus einer Oese einer 24stündigen schiefen Agarkultur auf 1 ccm physiologische Kochsalzlösung. Diese Aufschwemmungen wurden zusammengegossen, gut gemischt und bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach 24 Stunden wurde eine Oese davon auf den Objektträger gebracht, auf dem sich bereits ein Tropfen Serum befand. Die Beifügung von Serum war notwendig, um das Pulver und die Bakterien während des Färbeprozesses am Objektträger festzukleben. Das Pulver-, Bakterien- und Serumgemisch wurde ausgestrichen, an der Luft unter leichtem Erwärmen trocknen gelassen und behufs Koagu-

Tabelle I. Kristallinische Niederschläge.

	Färbung	Mikroskopisches Bild
Bariumsulfat + Staphylo	Methylenblau (1:40) 4', Gram-Gentianaviolett 3', Lugol 1½', Bismarckbraun 2'	Kristalle fast farblos, Bakterien dunkelblau Bakterien Gram-positiv, Kristalle Gram-negativ
Bariumsulfat + Coli	May-Giemsa, May konzentriert 3' May verdünnt 1:1 1', Giemsa 5' (1 Tropfen auf 1 ccm) Karbolfuchsin 4' konzentriert	BaSO <sub>4</sub> mittelviolet, Coli dunkelblau
Kalziumoxalat + Staphylo	Methylenblau verdünnt 6', Methylenblau verdünnt (1:40) 4', Gram-Gentianaviolett 3', Lugol 1½', Bismarckbraun 2'	Kristalle fast farblos, Bakterien dunkelblau CaC <sub>2</sub> O <sub>4</sub> Gram —, Bakterien Gram +
Kalziumoxalat + Coli	May-Giemsa, May konzentriert 3' May verdünnt (1:1) 1', Giemsa 5' (1 Tropfen auf 1 ccm) Karbolfuchsin (1:2) 4'	Bakterien dunkelblau, Kristalle mittelviolet Bakterien etwas dunkler rot als Kristalle
Asbest + Staphylo	Gram-Gentianaviolett 3', Lugol 1½', Bismarckbraun 2'	Asbest braun, Bakterien violettschwarz
Asbest + Coli . . . . .	Karbolfuchsin (1:2) 1'	Asbest hellrot, Bakterien dunkler

Diese fein kristallinischen Niederschläge und Kristallfasern (Asbest) erwiesen sich als starke Adsorbentien sowohl für Staphylokokken als auch für Bakterium Coli. Der helle Raum war stets frei oder äußerst arm an Bakterien, die an der Oberfläche des Adsorbens gehäuft sind.

lation des Eiweißes dreimal durch die Flammen gezogen. Alsdann wurden die Präparate gefärbt. Die im folgenden benutzten Farblösungen sind jedem, der mit Bakterienfärbung vertraut ist, bekannt. Wenn man sich an die hier gegebenen Vorschriften hält, wobei sowohl die Verdünnungen als auch die Färbezeiten genau einzuhalten sind, so erhält man schöne Präparate, welche Adsorbens und Bakterien deutlich unterscheiden lassen. Nur bei Kohle war eine Unterscheidung zwischen Bakterien und Adsorbens wegen Fehlens eines Kontrasts nicht möglich.

Zur Herstellung der kristallinen Adsorbentien (Bariumsulfat und Kalziumoxalat) wurde

1 ccm einer  $\frac{1}{20}$  mol Lösung von Natriumsulfat mit 1 ccm einer Bakterienaufschwemmung (wie vorher) versetzt und eine Lösung von  $\frac{1}{20}$  mol Bariumchlorid beigelegt. Nach 24 stündigem Stehen wurden von der Aufschwemmung in gleicher Weise Präparate gemacht wie beschrieben. Analog wurde ein Niederschlag von Kalziumoxalat, aus Ammoniumoxalat und Kalziumchlorid hergestellt.

Bei den Textilfasern wurden keine bestimmten Mengenverhältnisse gewählt. Die Fasern wurden zerzupft und in der von uns stets benutzten Bakterienaufschwemmung verteilt.

Tabelle II.

## Nicht kristallinische und amorphe Adsorbentien.

	Färbung	Mikroskopisches Bild
Ton + Staphylo . . .	Gram - Gentianaviolett 3', Lugol $1\frac{1}{2}'$ , Bismarckbraun 2'	Bakterien violettschwarz, Ton braun
Ton + Coli . . . . .	Karbolfuchsin (1:2) 4'	Bakterien etwas dunkler rot als Ton
Bolus + Staphylo . . .	Gram - Gentianaviolett 3', Lugol $1\frac{1}{2}'$ , Bismarckbraun 4'	Bakterien Gram +, Bolus Gram —
Bolus + Coli . . . . .	Karbolfuchsin 10' konzentriert	Bakterien etwas dunkler rot als Bolus
Kieselsäure + Staphylo (Osmosil)	Karbolfuchsin (1:2) 3', Gram - Gentianaviolett 3', Lugol $1\frac{1}{2}'$ , Bismarckbraun 4' od. Karbolfuchsin (1:2) 2'	Kieselsäure heller rot als Bakterien Kieselsäure Gram —, Bakterien Gram +
Kieselsäure (Osmosil) + Coli	Karbolfuchsin (1:2) 3'	Bakterien dunkler rot als Kieselsäure
Permutit + Staphylo . .	Methylenblau (1:40) 4', Gram - Gentianaviolett 3', Lugol $1\frac{1}{2}'$ , Bismarckbraun 2'	Staphylo viel dunkler blau als Permutit Staphylo Gram +, Permutit Gram —
Permutit + Coli . . . .	Karbolfuchsin (1:2) 4'	Bakterien dunkler rot als Permutit
Wolle + Staphylo . . .	Gram - Gentianaviolett 3', Lugol $1\frac{1}{2}'$ , Bismarckbraun 2'	Wollfäden Gram —, Bakterien Gram +
Wolle + Coli . . . . .	Karbolfuchsin (1:2) $\frac{1}{2}'$	Wollfäden und Bakterien ziemlich gleich dunkelrot gefärbt, so daß die Bakterien verdeckt werden
Seide + Staphylo . . . .	Gram - Gentianaviolett 3', Lugol $1\frac{1}{2}'$ , Bismarckbraun 2'	Seidenfäden braun, Bakt. violettschwarz
Seide + Coli . . . . .	Karbolfuchsin (1:20) 1'	Seidenfäd. manchmal etwas heller als Coli
Baumwolle + Staphylo .	Gram - Gentianaviolett 3', Lugol $1\frac{1}{2}'$ , Bismarckbraun 2'	Baumwolle hellbraun, Bakterien violettschwarz
Baumwolle + Coli . . .	Karbolthionin (1:5) $\frac{1}{2}'$	Baumwolle heller violett als Bakterien

Auch bei den hier beschriebenen amorphen bzw. kolloiden Adsorbentien fand allgemein starke Adsorption statt. Ein Unterschied in der Adsorption von Staphylokokken und Bakterium Coli war nicht festzustellen.

So demonstrativ auch die erhaltenen Bilder sind, so zeigte sich doch, daß auf färberischem Wege keine quantitativen Anhaltspunkte zu ge-

winnen waren, welche Rolle die Natur des Adsorbens spielt.

## Quantitative Versuche.

Als Adsorpt dienten wieder Staphylokokken und teilweise auch Bakterium Coli. Als Adsorbens wurden wieder eine Reihe bekannter Adsorbentien gewählt wie Tierkohle, Pflanzen-

kohle, Bolus, ferner auch einige bisher in der klinischen Praxis nicht oder wenig benutzte Adsorbentien, wie die der chemischen Technik bekannte Fullererde, ein Aluminium-magnesium-hydrosilikat, Kieselsäure, Permutit von der Permutit-Aktiengesellschaft Berlin, Eisenoxyd, ein Ton, wie er zur Fabrikation von Kriegsseife dient und uns von der Firma Gustav Böhm in Offenbach zur Verfügung gestellt wurde. Ferner wieder als kristallinische Adsorbentien Bariumsulfat und Kalziumoxalat.

Um festzustellen, inwieweit die Korngröße eine Rolle spielt, haben wir den Ton weitgehend

geschlemmt und sowohl die größten als auch die feinsten Schlemmungen angewandt. Bei Eisenoxyd kamen ganz grobkörniges Eisenoxyd, sowie das ungemein feine Englischrot zur Verwendung; als Kieselsäure in feinkörniger Seesand, sowie das ungemein feine osmotisch gereinigte Kieselsäurepräparat „Osmosil“, welches uns von der Elektro-Osmose-Gesellschaft in Berlin übergeben wurde.

Ueber die Dimensionen der Adsorbentien gibt Tabelle III Aufschluß. Die Messungen wurden mittels des Okularmikrometers vorgenommen.

Tabelle III.  
Durchmesser der Pulver (vgl. auch Tabelle V).

Adsorbens	Maximalgröße	Minimalgröße	Zahl der Messungen	Mittel	Quadrat des Mittels.	Adsorbierte Keime Proz.
Bariumsulfat . . . . .	2,7 $\mu$	0,3 $\mu$	57	1,13 $\mu$	1,28 $\mu^2$	95,9
Kalziumoxalat . . . . .	3,3 „	0,3 „	48	1,41 „	1,99 „	97,1
Ton fein . . . . .	6 „	0,75 „	52	2,9 „	8,41 „	75,35
Ton grob . . . . .	14,25 „	1,5 „	50	5,06 „	25,6 „	62,32
Eisenoxyd fein (Englischrot) . . . . .	16,5 „	0,3 „	51	5,44 „	29,59 „	97,67
Tierkohle . . . . .	22,5 „	1,2 „	50	6,09 „	37,09 „	99,93
Bolus . . . . .	12,75 „	1,8 „	49	6,47 „	41,68 „	94,93
Kieselsäure (Osmosil) . . . . .	18 „	1,5 „	56	6,84 „	46,79 „	89,85
Fullererde . . . . .	22,5 „	0,9 „	50	6,9 „	47,61 „	99,94
Pflanzenkohle . . . . .	37,5 „	0,75 „	50	7,3 „	54,29 „	99,97
Sand grob . . . . .	221 „	87,75 „	50	151,63 „	22991 „	fast 0
Eisenoxyd grob . . . . .	276,25 „	17,88 „	50	173,7 „	30171 „	fast 0

Da für die Adsorption nicht der Durchmesser, sondern die Oberfläche in Betracht kommt, so haben wir in der 6. Rubrik das Quadrat des mittleren Durchmessers beigelegt.

Wie die Adsorptionsversuche angestellt wurden, ergibt sich aus S. 40. In Rubrik 7 der Tabelle III ist der Grad der Adsorption in Prozenten ausgedrückt, bezogen auf die Kontrollen (S. 40).

#### Adsorption von Farbstoffen.

Da zur Prüfung der Adsorptionskraft der Kohle von E. Merck in Darmstadt die nachstehend beschriebene Vorschrift besteht, so haben wir für unsere Adsorbentien ebenfalls diese Prüfung zum Vergleich vorgenommen. Die Merck'sche Vorschrift lautet: Von Kohle werden 0,1 g abgewogen und in einem Röhrchen mit 20 ccm einer 0,15 %o Methylenblaulösung geschüttelt. Es tritt Entfärbung ein.

Da wir annehmen, daß ein basischer Farbstoff, wie Methylenblau, sich gegenüber den verschiedenen Adsorbentien nicht gleich verhalten werde, wie ein saurer Farbstoff, so haben

wir auch Versuche angestellt mit dem Säurefarbstoff Trypanblau (Grübler & Co.), das in seinem Diffusionsvermögen dem Methylenblau ähnelt, und ferner mit dem ungemein leicht diffusiblen Tolanrot der Firma Kalle.

Der Grad der Adsorption wurde kolorimetrisch bestimmt und ist in der Tabelle in Prozenten ausgedrückt. 100 Proz. heißt: totale Adsorption des Farbstoffes, 0 Proz. überhaupt keine Adsorption.

Aus Tabelle IV ergibt sich zunächst, daß Pflanzen- und Tierkohle (Merck) allen anderen Adsorbentien für basische und saure Farbstoffe weit überlegen sind. Der klinisch so viel angewandte Bolus läßt in seinen Adsorptionseigenschaften gegen die geprüften Farbstoffe keinerlei Vergleich zu mit den beiden Kohlearten. Eine ganz überraschende Adsorptionskraft für das basische Methylenblau besitzt auch die klinisch unbekannte Fullererde. Für saure Farbstoffe ist ihr Adsorptionsvermögen jedoch ebenso gering wie das von Bolus, Ton usw. Es ist überhaupt in die Augen springend, daß das basische Methylenblau

fast von allen Pulvern mehr oder weniger adsorbiert wird. Eine Ausnahme machen nur der ganz grob dimensionierte Sand und das kathodisch wandernde Eisenoxyd. — Im Gegensatz dazu werden beide saure Farbstoffe von den anodisch wandernden Pulvern wenig oder überhaupt nicht adsorbiert; eine Ausnahme machen nur Tier- und Pflanzenkohle, sowie bei Trypanblau das fein dimensionierte kathodisch wandernde Eisenoxyd. — Da in Tabelle IV die gewählten Pulver nach ihrem Durchmesser ge-

ordnet sind (wie in Tabelle III), so gestattet sie ein Urteil über den Einfluß der Oberflächenentwicklung auf die Adsorption. Da zeigt sich nun, daß das gleiche Pulver mit großer Oberflächenentwicklung ein weit größeres Adsorptionsvermögen besitzt als das mit kleiner: Ton von 2,9  $\mu$  Durchmesser adsorbiert 95 Proz., solcher von 5,6  $\mu$  nur 75 Proz. Methylenblau. Kieselsäure von 6,84  $\mu$  adsorbiert 60 Proz., solche von 151  $\mu$  (Sand) 0 Proz.; Permutit fein adsorbiert 70 Proz., Permutit grob 0 Proz.

Tabelle IV.  
Adsorption von Farbstoffen.

	Metylenblau		Trypanblau		Tolanrot	
	Proz.	Grad der Ausflockung binnen zwei Stunden	Proz.	Grad der Ausflockung binnen zwei Stunden	Proz.	Grad der Ausflockung binnen zwei Stunden
1. Ton fein . . . . .	95	ausgeflockt	0	nicht sedimentiert	10	nicht sedimentiert
2. Ton grob . . . . .	75	nicht sedimentiert	0	"	10	"
3. Eisenoxyd fein . . . . .	0	teilweise abgesetzt	50	ausgeflockt	0	ausgeflockt
4. Tierkohle . . . . .	100	ausgeflockt	91	in Suspension	100	in Suspension
5. Bolus . . . . .	75	noch etwas trübe	0	noch trübe	5	noch trübe
6. 0,6 Proz. Silberbolus . . . . .	77	in Suspension	0	in Suspension	5	in Suspension
7. 6 Proz. Silberbolus . . . . .	75	"	0	"	5	"
8. 0,8 Proz. Quecksilberbolus . . . . .	80	"	0	"	5	"
9. 0,6 Proz. Ag + 0,8 Proz. Hgbol. . . . .	80	"	0	"	5	"
10. Kieselsäure fein . . . . .	60	ausgeflockt	0	abgesetzt	10	noch etwas trübe
11. Fullererde . . . . .	100	"	0	noch etwas trübe	0	ausgeflockt
12. Pflanzenkohle . . . . .	100	"	91	in Suspension	100	"
13. Permutit fein . . . . .	70	"	0	abgesetzt	10	noch etwas trübe
14. Sand grob . . . . .	0	abgesetzt	0	"	5	abgesetzt
15. Eisenoxyd grob . . . . .	0	"	0	"	0	"
16. Permutit grob . . . . .	50	"	0	"	10	"

Diese Unterschiede machen sich jedoch nur bei Verschiedenheiten der äußeren Dimension bemerkbar; das ganz abweichende Verhalten der porösen Kohle weist darauf hin, daß die innere nicht meßbare Oberfläche für die Adsorption eine hervorragende Rolle spielt.

Tolanrot fällt insofern aus den Versuchen heraus, als es infolge seiner leichten Diffusibilität überhaupt keine bemerkenswerten Adsorptionserscheinungen bietet; eine Ausnahme macht es in seinem Verhalten gegenüber Pflanzen- und Tierkohle.

Sofern es gestattet ist, aus diesen Versuchen praktische Folgerungen zu ziehen, so wäre für Adsorptionszwecke in allen Fällen Tier- oder Pflanzenkohle bei weitem vorzuziehen. Für basische Kolloide und Semikolloide käme ferner noch Fullererde in Betracht.

In Tabelle IV haben wir noch je eine Rubrik beigelegt, welche Auskunft darüber gibt, ob die Suspension in Gegenwart des Farbstoffes sedimentierte, ausflockte oder in Suspension blieb. Da bei der Anordnung der Versuche

keine bestimmten Gesichtspunkte maßgebend waren, so sehen wir von einer Diskussion der Erscheinungen ab und machen nur auf die hier von neuem in die Erscheinung tretende Tatsache aufmerksam, daß Adsorption und Ausflockung nichts direkt miteinander zu tun haben.

#### Adsorption von Bakterien.

Zur quantitativen Messung der Bakterienadsorption wurde eine Bakterienaufschwemmung von bekanntem Keimgehalt mit einer bestimmten Gewichtsmenge des zu prüfenden Pulvers eine Minute lang geschüttelt. Ein schwieriges Problem war es, festzustellen, welcher Anteil der Bakterienemulsion adsorbiert, welcher frei in der Flüssigkeit schwebt. Unter den verschiedenen, sämtlich nicht ganz befriedigenden Möglichkeiten wählte ich die Trennung der Bakterien vom Adsorbens durch Filtration. Ich verkenne hierbei keineswegs die Fehler, welche bedingt werden durch das Verstopfen der Filterporen seitens des Adsorbens. Durch Anwendung recht geringer Mengen Adsorbens (2 Proz.) ist jedoch

diese Fehlerquelle auf ein Minimum reduziert. Die Menge der nicht adsorbierten Bakterien wurde im Filtrat durch Ausgießen auf Agarplatten und Bestimmung der Keimzahl gemessen. — Die Trennung der Bakterien von dem Adsorbens gelingt leicht bei Kohle, Fullererde und Eisenoxyd. Bei feinen Niederschlägen (Bariumsulfat, Bolus u. a.) genügt jedoch einmalige Filtration selbst durch gehärtete Filter nicht; hier muß zur vollkommenen Trennung zweimal und dann noch durch ein Doppelfilter filtriert werden. Da wir den Grad der Adsorption, wie bei der Adsorption von Farblösungen, in Prozenten, bezogen auf den Bakteriengehalt der Kontrollaufschwemmungen, bestimmten, so wurde auch die Kontrollbakterienaufschwemmung stets durch die entsprechende Filterzahl filtriert. Dadurch erfährt auch der Keimgehalt der Bakterienkontrollen eine gewaltige Abnahme, aber das Verhältnis erleidet dadurch, ausgenommen durch obige Fehlerquelle, keine Änderung. — Der Pulvergehalt der Aufschwemmungen betrug zwei Gewichtsproz. Auch bei den kristallinen Niederschlägen (Bariumsulfat, Kalziumoxalat) wurde der Gehalt so gewählt, daß sich annähernd 2 Proz. in der Flüssigkeit befanden.

**Versuchsordnung:** Die Prüfung der Pulver wurde an Staphylokokken, teilweise an *Bakterium Coli* vorgenommen. Sie erfolgte in nachstehend beschriebener Weise. Eine Oese einer 24 stündigen Agarkultur wird in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung fein verteilt, dann mit weiteren 24 ccm physiol. Kochsalzlösung verdünnt (Verdünnung 1:250). Von der so erhaltenen Aufschwemmung wird 1 ccm mit 4 ccm physiol. Kochsalzlösung oder mit je 2 ccm zwei einander ausfällender Lösungen oder mit 2,5 ccm einer Aufschwemmung irgend eines Pulvers + 1,5 ccm physiol. Kochsalzlösung versetzt, so daß das Gesamtvolumen stets 5 ccm ist.

**Kontrollen:** Von der Bakterienaufschwemmung werden 1 ccm mit 4 ccm 0,85 Proz. NaCl-Lösung versetzt und drei Proben angesetzt. Probe I wird nicht filtriert, Probe II wird durch ein gehärtetes Filter (Nr. 602 extra hart von Schleicher & Schüll) filtriert, Probe III wird einmal durch ein Filter, dann durch zwei Filter filtriert. Vor dem Filtrieren wurden die Aufschwemmungen eine Minute tüchtig geschüttelt. Zuletzt wurden von jeder Probe zwei bis drei Platten gegossen. 1 ccm der Aufschwemmung wurde mit Agar vermischt (auf 43° abgekühlt) und ausgegossen. Die Platten wurden für

48 Stunden in den Brutschrank gestellt und dann gezählt.

**Adsorbentien:** Die Bariumsulfat-suspension wurde hergestellt aus 1 ccm der Bakterienaufschwemmung + 2 ccm einer  $\frac{1}{4}$  mol Natriumsulfatlösung. Nachdem sie 15 Minuten im Eisschrank gestanden hatte, wurden zugesetzt 2 ccm einer  $\frac{1}{4}$  mol Bariumchloridlösung.

**Kalziumoxalat:** Es wurden 1 ccm der Bakterienaufschwemmung, 2 ccm einer  $\frac{1}{4}$  mol Ammoniumoxalatlösung zugesetzt. Nach 15 Minuten im Eisschrank wurden 2 ccm einer  $\frac{1}{4}$  mol Kalziumchloridlösung beigelegt.

Die übrigen Adsorbentien Fullererde, Pflanzen-, Tierkohle usw. wurden wie folgt angesetzt: 1 ccm der Bakterienaufschwemmung wurde mit 1,5 ccm physiol. NaCl-Lösung und 2,5 ccm einer vierprozentigen Aufschwemmung der Pulver versetzt. Sämtliche Proben werden, nachdem sie eine Minute geschüttelt worden sind, filtriert. Vom Filtrat werden in der beschriebenen Weise Platten gegossen.

In Tabelle V sind die Adsorbentien geordnet nach ihrem Durchmesser, wie in Tabelle III, wo auch der Durchmesser nachgesehen werden kann. Die nachstehende Tabelle V gibt das Mittel der Keimzahlen aus drei Platten an, bezogen je auf die gleich behandelten Kontrollen (ohne Adsorbens).

Tabelle V (vgl. auch Tabelle III).

	Nicht filtriert Keim- zahl	Einmal filtriert durch ein Filter Keimzahl	Zweimal fil- triert durch ein Filter, dann durch zwei Filter Keimzahl
Kontrolle I . . . . .	29156	—	—
„ II . . . . .	—	11526	—
„ III . . . . .	—	—	69
Bariumsulfat . . . . .	—	—	3
Kalziumoxalat . . . . .	—	—	2
Ton fein (mittl. 2,9 $\mu$ ) . . . . .	—	—	17
Ton grob (5,6 $\mu$ ) . . . . .	—	—	26
Eisenoxyd fein (Englischrot) . . . . .	—	268	—
Tierkohle . . . . .	—	8	—
Bolus . . . . .	—	—	4
Kieselsäure . . . . .	—	—	7
Fullererde . . . . .	—	7	—
Pflanzenkohle . . . . .	—	3	—

Aus diesen Tabellen ergibt sich, daß, wie bei den Adsorptionsversuchen mit Farbstoffen, Tier- und Pflanzenkohle sowie Fullererde ein alle anderen Pulver überragendes Adsorptions-

vermögen zukommt. Es zeigt sich ferner, daß sich Eisenoxyd für Bakterien, im Gegensatz zu den Farbstoffversuchen, als kein schlechtes Adsorbens erweist. Ob gerade die kristallinische Beschaffenheit für die guten Adsorptionseigenschaften von Bariumsulfat und Ammoniumoxalat wesentlich in Betracht kommen, läßt sich aus diesen Versuchen nicht erkennen, denn diese beiden kristallinischen Niederschläge besitzen zugleich die größte Entwicklung der äußeren Oberfläche unter allen geprüften Adsorbentien. Die große Bedeutung der Oberflächenentwicklung ergibt sich aus dem Vergleich von grobem und feinem Ton. Ton von mittlerem Durchmesser von  $5,6 \mu$  adsorbiert 62 Proz., solcher von  $2,9 \mu$  75 Proz. der Bakterien.

Es muß hier nochmals betont werden, daß die hier gefundenen Zahlen Maximalzahlen darstellen wegen der Verstopfung der Filterporen

durch das Adsorbens; hierbei wird naturgemäß die Verstopfung um so stärker sein je feiner das Adsorbens ist. — Wenn sich trotzdem eine überraschende Uebereinstimmung mit den Farbstoffadsorptionsversuchen ergibt, so beweist dies, daß den Zahlen eine reale Bedeutung zukommt.

Die folgenden Versuche hatten den Zweck, nochmals zu prüfen, inwieweit die Dimension von Pulvern und die chemischen Eigenschaften gegenüber differenten Bakterien von Bedeutung sind.

Es wurden angewandt Eisenoxyd grob mit dem Durchmesser  $173,7 \mu$ , Eisenoxyd fein mit  $5,4 \mu$ , Kieselsäure grob mit  $151,3 \mu$  und Kieselsäure fein mit  $6,8 \mu$  Durchmesser. Die Versuche wurden so angestellt wie schon beschrieben. Zu bemerken ist noch, daß sämtliche Proben nur einmal durch ein Filter filtriert wurden.

Tabelle VI.

	Staphylokokken			Bakterium Coli		
	Nicht filtriert Keimzahl	Einmal filtriert Keimzahl	durch ein Filter Proz. der Adsorption	Nicht filtriert Keimzahl	Einmal filtriert Keimzahl	durch ein Filter Proz. der Adsorption
Kontrolle I . . . . .	12578	—	—	5890	—	—
" II . . . . .	—	248	—	—	3255	—
Eisenoxyd grob . . . . .	—	255	0	—	1556	52,22
" fein . . . . .	—	1	99,6	—	595	81,72
Kieselsäure grob . . . . .	—	344	0	—	1556	52,22
" fein . . . . .	—	19	92,34	—	154	95,34

Aus Tabelle VI ergibt sich von neuem, daß grobe Verschiedenheiten in der Korngröße für die Stärke der Adsorption von allererster Bedeutung sind.

Ein gewisser Unterschied der chemischen Eigenschaften des Adsorbens und der adsorbierten Bakterien scheint mir nicht von der Hand zu weisen zu sein. Wir sehen, daß Staphylokokken von Eisenoxyd im Verhältnis stärker adsorbiert werden, während auf Bakterium Coli die Kieselsäure eine starke Adsorption ausübt.

#### Kolloide.

Die Dimensionen der feinsten Pulver, wie z. B. Bariumsulfat, Kalziumoxalat, feinsten Ton ( $1,13 - 2,9 \mu$  mittlerer Durchmesser) nähern sich bereits sehr der Größe unserer Bakterien. — Es war daher naheliegend, zu prüfen, wie sich wohl Adsorbentien von weit kleinerem Durchmesser, nämlich kolloide Lösungen, gegen Bakterien verhalten würden. Aus mehreren Untersuchungen ist bekannt, daß Bakterien bei Zusatz von Hydrosolen agglutinieren, daß sie ausflocken, wie die Mischung von entgegen-

gesetzten geladenen Kolloiden. Dieser Fall tritt jedoch nur bei ganz bestimmten Mengenverhältnissen ein und war zu vermeiden. — Bei unserer Betrachtungsweise sollte man vielmehr annehmen, daß der Vorgang der Adsorption sich umkehrt, indem das Bakterium das Adsorbens, das Kolloid das Adsorpt wird. Praktisch bleibt sich das wohl ziemlich gleich, denn in beiden Fällen sollte eine Massenvergrößerung eintreten. — An eine Trennung der adsorbierten Bestandteile von den Ausgangsprodukten durch Filtration war allerdings nicht mehr zu denken, denn auch die gehärteten Filter lassen Bakterien wie kolloide Lösungen durch, Ultrafilter aber halten beides zurück. Es war deshalb geboten, die Trennung durch Zentrifugieren (elektrische Zentrifuge) vorzunehmen. — Als Kolloide wurden gewählt das negativ geladene Eisenoxydhydrosol und das positiv geladene Berlinerblau. Zunächst war festzustellen, ob die Gegenwart von Berlinerblau oder Eisenoxydhydrosol das Bakterienwachstum in irgend einer Weise schädigt. — Die Versuche wurden in folgender Weise angesetzt.

**Kontrollen:** Es wurden Staphylokokkenstammlösungen in 0,85 Proz. NaCl (St. I) und in H<sub>2</sub>O (St. II) hergestellt. Eine Oese einer 24stündigen schiefen Agarkultur wurde mit 20 ccm NaCl (St. Ia) bzw. H<sub>2</sub>O (St. IIa) vermischt. Von diesen Aufschwemmungen wurden je 1 ccm mit weiteren 100 ccm NaCl bzw. H<sub>2</sub>O vermischt, so daß die Verdünnung gleich 1:2000 ist.

**Eisenoxydhydrosol:** Dann wurde von einer 1‰ Eisenoxydhydrosollösung 9,9 ccm mit 0,1 ccm (St. Ia) versetzt (St. Ia = 1 Oese Staphylokokken auf 20 ccm 0,85 Proz. NaCl) und gemischt (St. III).

**Berlinerblauhydrosol:** In der gleichen Weise wurde eine Berlinerblau-Staphylokokkenstammlösung hergestellt. Zur Verdünnung wurde steriles dest. Wasser genommen, da 0,85 Proz. NaCl zu schnell eine Ausflockung hervorruft. 9,9 ccm Berlinerblau wurden dann mit 0,1 ccm (St. Ia) gemischt (St. IV).

Von den eben beschriebenen Stammlösungen wurden von jeder Lösung je drei Platten gegossen und das Mittel der Keimzahlen bestimmt.

Tabelle VII.

	Mittlere Keimzahl in 1 ccm
1. Staph.-Stammlösung in NaCl . . . . .	5929
2. " " " H <sub>2</sub> O . . . . .	8609
3. " " " Eisenoxydhydrosol . . . . .	3310
4. " " " Berlinerblau . . . . .	10272

Es ist auffällig, daß die Keimzahl in Berlinerblau fast doppelt so groß ist als in der Kontrolle (physiol. NaCl) und erheblich größer als in Gegenwart von Wasser. Daß umgekehrt bei Gegenwart von Eisenoxydhydrosol die Keimzahl wesentlich geringer ist, überrascht nicht. Der Befund ist, wie sich aus Tabelle VIII ergibt, kein zufälliger; man kann daran denken, daß die Staphylokokken, welche ja Haufen bilden, durch das Berlinerblau stärker verteilt, durch das Eisenoxydhydrosol mehr agglutiniert werden.

Die Annahme gewinnt aus den Zentrifugerversuchen an erheblicher Wahrscheinlichkeit, da die Wirkung der Zentrifugalkraft um so größer sein wird, je größer die Haufen sind (Tab. VIII).

Tabelle VIII.

	Kontrolle nicht zentrifugiert	5 Minuten zentrifugiert	Entkeimung Proz.	15 Minuten zentrifugiert	Entkeimung Proz.
1. Stammlösung in NaCl . . . . .	2943	314	89,3	72	97,5
2. " " H <sub>2</sub> O . . . . .	6262	957	84,7	134	97,9
3. " " Eisenoxydhydrosol . . . . .	2410	41	98,3	15	99,4
4. " " Berlinerblau . . . . .	10920	2895	73,5	354	96,8

Im Anfang dieser Arbeit wurde gezeigt, daß die Adsorption von Bakterien durch Pulver um so stärker ist, je größer ihre Oberflächenentwicklung. Dies trat besonders bei den groben Dimensionsunterschieden der Tabelle VI hervor. Sobald wir uns jedoch dem Durchmesser von 6  $\mu$  nähern, scheint eine Vergrößerung der äußeren Oberfläche keine erhebliche Bedeutung mehr zu gewinnen, man kommt nicht mehr über eine 95—97prozentige Adsorption heraus; hier dürfte der Umkehrpunkt liegen. Dies zeigen die folgenden Versuche, bei denen Bakterienemulsionen in Gegenwart von Eisenoxyd- sowie Berlinerblauhydrosol zentrifugiert wurden und wo in einer Vergleichsprobe Ton zugesetzt wurde. Aus praktischen Gründen wurde noch Serum hinzugefügt.

Es ergibt sich daraus, daß die beiden Hydrosole auf die Entkeimung überhaupt keinen Einfluß mehr haben, daß aber Ton die Keimzahl noch stark herabzudrücken vermag.

Es wurde zunächst eine Staphylokokkenaufschwemmung in 0,85 ‰ NaCl hergestellt. Eine Oese einer 24stündigen schiefen Agarkultur wurde in 20 ccm NaCl fein verteilt, davon wird 1 ccm in 24 ccm physiol. NaCl gegeben und geschüttelt. Verdünnung 1:500.

Spitze Zentrifugengläser werden wie folgt gefüllt: 2 ccm inaktiviertes Pferdeserum, 1 ccm Staphylokokkenaufschwemmung — 1 ccm Kochsalz oder 1 ccm einer kolloiden Lösung.

**Kontrollen:** Es werden drei Versuche angesetzt. 1 ccm der Bakterienaufschwemmung wird mit 2 ccm Serum und 1 ccm Kochsalz versetzt. Probe I wird nicht zentrifugiert, Probe II wird 30 Minuten zentrifugiert und zu Probe III wird, nachdem sie 20 Minuten zentrifugiert wurde, 5 Tropfen einer Tonaufschwemmung aus mittelfeinem Ton zugesetzt und dann noch 10 Minuten weiterzentrifugiert. 1 ccm der Flüssigkeit wird dann mit Agar vermischt und in Petrischalen ausgegossen. Die Platten werden nach 24stündigem Stehen bei 37° gezählt.



Eisenoxhydrolysol mit 0,015 Proz. im Gesamtvolumen. Zwei Proben werden angesetzt. 1 ccm Bakterienaufschwemmung wird mit 2 ccm Serum und 1 ccm 0,015 Proz. Eisenoxhydrolysol-lösung versetzt. Probe I wird 30 Minuten zentrifugiert. Zu Probe II werden, nachdem sie 20 Minuten zentrifugiert wurde, 5 Tropfen Ton-aufschwemmung zugesetzt, dann 10 Minuten weiterzentrifugiert. Sonst werden die Proben genau so weiter behandelt wie die vorhergehenden.

Berlinerblau mit 0,1 Proz. im Gesamtvolumen. Bei Probe II wurde ebenfalls Ton zugesetzt.

Eisenoxhydrolysol + Berlinerblau. Die nächste Probe erhielt als Zusatz 0,5 ccm Eisenoxhydrolysol (0,015 Proz.). Sie wurde 15 Minuten in den Eisschrank gestellt und mit 0,5 ccm Berlinerblau versetzt. Darauf wurde eine halbe Stunde zentrifugiert.

Berlinerblau + Eisenoxhydrolysol. Die letzte Probe erhielt als Zusatz erst 0,5 ccm Berlinerblau und wurde nach 15 Minuten langem Stehen im Eisschrank mit 0,5 ccm Eisenoxhydrolysol versetzt, dann zentrifugiert.

Die Zusätze der beiden letzten Proben fallen sich aus. Es soll festgestellt werden, ob der spätere Zusatz des einen oder des anderen von Bedeutung ist.

Tabelle IX.

		Dauer des Zentrifu- gierens Minuten	Nicht zentrifu- giert Mittel	Mit Ton zentrifu- giert Mittel	Ohne Ton zentrifu- giert Mittel
Kontrolle	I	—	19880	—	—
"	II	30	—	—	1154
"	III	30	—	35	—
Eisenoxhyd		30	—	—	2348
"		30	—	72	—
Berlinerblau		30	—	—	1316
"		30	—	84	—
Eisenoxhyd + Berlinerblau		30	—	—	197
Berlinerblau + Eisenoxhyd		30	—	64	—

Es ergibt sich daraus, daß die beiden Hydrolyse auf die Entkeimung überhaupt keinen Einfluß mehr haben, daß aber Ton die Keimzahl stark herabzudrücken vermag.

Bei der Ausführung dieser Untersuchung wurde ich von Frl. Helene Färber verständnisvoll unterstützt.

### Zusammenfassung.

1. Es wurden Vorschriften angegeben zur Kontrastfärbung der Adsorption von Bakterien an einer Reihe von Pulvern und Faserstoffen (S. 36 und 37).

2. Es wurde der Durchmesser einer Anzahl adsorbierender Pulver bestimmt (S. 38).

3. Es zeigte sich, daß bei groben Größenunterschieden (Eisenoxhyd 5,44  $\mu$  und 173,7  $\mu$ , Kieselsäure 6,84  $\mu$  und 151,63  $\mu$ ) die Stärke der Bakterienadsorption von der äußeren Oberflächenentwicklung abhängt. — Nähern sich jedoch die Dimensionen der Pulver denen der Bakterien, so treten andere Einflüsse in den Vordergrund. — Es erwiesen sich Tier- und Pflanzenkohle sowie Fullererde allen anderen untersuchten Adsorbentien überlegen, trotzdem ihr mittlerer Durchmesser größer ist als der von anderen schlechter adsorbierenden Pulvern. Es wird angenommen, daß die innere Oberflächenentwicklung bei den genannten größer ist.

4. Es ergab sich ein Parallelismus zwischen Bakterienadsorption und Adsorption des basischen Methylenblau. — Saure Farbstoffe zeigten gegenüber den adsorbierenden Pulvern andere Eigenschaften; sie wurden jedoch ebenfalls von Tierkohle stark adsorbiert.

5. Bei Berlinerblau- und Eisenoxhydrolysol wurde (bei Vermeidung ausflockender Mengenverhältnisse) eine Bakterienadsorption durch Gewichtsvermehrung (Zentrifugieren) nicht festgestellt.

Aus dem Institut für Kolloidforschung  
und dem

Kgl. Institut für experimentelle Therapie.

## Referate.

### Arbeiten über spezielle experimentelle Kolloidchemie.

Berczeller, L., Ueber Farbe und Dispersitätsgrad. (Biochem. Zeitschr. 84, 160—174, 1917.)

Weitere Beiträge zu Wo. Ostwald's Feststellung des Zusammenhanges zwischen Farbe und Dispersitätsgrad:

Ganz frisch gefälltes Lanthanhydroxyd gibt mit Jod eine Adsorptionsverbindung, welche rötlich bis rot ist. Erst wenn das Hydroxyd einige Tage gestanden hat und seine Dispersität eine geringe geworden ist, tritt die von W. Biltz (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 3371) beobachtete Blaufärbung auf. Also Analogie zur Reaktion von Jod mit Dextrin einerseits, mit Stärke andererseits.