

Yhim.

A- 3

359

Aus dem Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde  
der Justus-Liebig-Universität Gießen  
- Gießen -

Direktor: Prof. Dr. H. Bartels

Prof. Dr. H. Bartels und Dr. R. Hadlok, Gießen

Untersuchungen zur Verhütung bakteriell bedingter Häute-  
schäden

Einleitung

In Jahre 1963 konnte bei verschiedenen Häuteverwertungen der Bundesrepublik Deutschland erneut ein verstärktes Auftreten von Rot- und Violettverfärbungen bei gesalzene Tierhäuten, besonders bei Kalbfellen, beobachtet werden. Daraus ergab sich die Anregung, den Ursachen nachzugehen und Möglichkeiten ihrer Verhütung zu prüfen.

Literatur

Das Auftreten von Rotverfärbungen bei gesalzene Häuten ist schon lange bekannt. Die ersten Veröffentlichungen beginnen, wie Stuart, Frey und James (16) erwähnen, im Jahre 1928 mit einem Bericht südamerikanischer Häutefachleute. Die Untersuchungen von Bergmann und Jordan-Lloyd, 1929, (2, 8) ergaben dann die Abgrenzung der Begriffe "Salzflecken", vorwiegend gelber Auflagerungen, deren Entstehung chemischer Natur ist, von den bakteriell bedingten Rotverfärbungen. Von derartigen roten Farbauflagerungen befallene Häute unterliegen einer nicht unerheblichen Wertminderung. So werden erhöhter Hautsubstanzverlust beim Weichen und Äschern, ungleichmäßiges Aufziehen von Farbe, Fett und Glanz auf den veränderten Narbenstellen, schwammige Narben und Lockerheit des Lederfasergefüges mit der roten Verfärbung der Fleischseite der Rohhäute in Zusammenhang gebracht (Stather (14)).

Für die Veränderungen werden zwei Gruppen von Bakterien verantwortlich gemacht: Bergmann und Stather (2, 15) isolierten ubiquitäre, halotolerante Mikroorganismen wie Mikrokokken, *Proteus*, *Actinomyces*, die bei einer Salzkonzentration bis zu 4 % und 8 % wuchsen. Die zweite Gruppe stellen die Halophilen dar, die optimale Wachstumsbedingungen bei einem Salzgehalt von 15 bis 30 % finden (1, 4, 10). Einige dieser Mikroorganismen vermögen einen roten Farbstoff verschiedener Nuancen zu bilden. Auftretende Violettöne sollen als Farbtintensivierung, bedingt durch das Alter der Bakterienkolonien, nicht als gesonderte Farbstoffbildung bestimmter Bakterienstämme aufzufassen sein (3, 12).

Von rot verfärbten Häuten wurden bislang als halophile Bakterien Kokken (*Sarcinen*) und Stäbchenbakterien von wechselnder Gestalt (*Pseudomonas*arten) isoliert und in ihren kulturellen, morphologischen und biochemischen Eigenheiten beschrieben (1, 3, 4, 10, 17). Alle Untersucher berichten einmütig über die Schwierigkeiten, die das Arbeiten mit diesen halophilen Bakterien bietet.

Bei den halophilen Bakterien der Familie *Pseudomonadaceae* handelt es sich um gramnegative, stäbchenförmige Bakterien, deren Größe zwischen einer Länge von 1 bis 8  $\mu$  sowie einer Breite von 0,4 bis 1,5  $\mu$  liegt (3, 4, 10). Diese Schwankungen in der Größenbestimmung der Bakterien erklären sich durch den Einfluß, den die Art des Mediums, sein Salzgehalt und das Alter der Kultur auf die Morphologie der Bakterien ausüben (1, 3, 4, 10, 12). So finden sich neben spindelförmigen, unregelmäßig verbreiterten, keulenförmigen und krummen Formen kokkoid gestaltete Bakterien mit einem Durchmesser von 0,8 bis 2  $\mu$  (3, 4, 10). Neben diesen kleinen runden Gebilden treten Bakterien mit einem Durchmesser bis zu 7  $\mu$  auf, die als Vermehrungsform Sprossungen aufweisen. Diese Art der Vermehrung scheint neben der Zellteilung der Stäbchen zu stehen (10). Die Vielgestaltigkeit der Bakterien wird ebenfalls mitbedingt durch Einflüsse bei der nicht immer leicht durchzuführenden färberischen Darstellung, was sich durch Vergleichsuntersuchungen im Phasenkontrastverfahren nachweisen läßt. Junge Kulturen behalten bei der Phasenkontrastmikroskopie ihre mehr oder weniger ausgeprägte Stäbchenform bei (1). Die polare Begeißelung der Bakterien, die ihre Beweglichkeit bedingt, konnte färberisch bisher nicht dargestellt werden (1).

Das Wachstum dieser Bakterien in flüssigen Medien tritt nur sehr schwach oder gar nicht ein (1, 3, 4, 10). Auf Salzagar ist Wachstum in runden, glänzenden, glattrandigen, gewölbten Kolonien nach etwa 5 Tagen feststellbar, während auf einem Milch-Salz-Agar (10) schon Wachstum nach 2 bis 4 Tagen bei +37°C eintritt (1, 3, 10, 17). Auf der Fleischseite von Häuten ist unter Laboratoriumsbedingungen ein Wachstum nach etwa 2 Wochen nachweisbar. Optimales Wachstum erfolgt bei Temperaturen von +37°C und bei relativer Luftfeuchte von 70 bis 80 % (1, 3, 6, 10).

Von den biochemischen Eigenschaften der Bakterien interessiert für die Häutekonservierung besonders ihre proteolytische (eiweißzeretzende) Fähigkeit. Proteolytische Eigenschaften wurden bei diesen Keimen mit Hilfe von Milch- und Gelatinenährböden nachgewiesen (1, 3, 10). Auf eine biochemische Tätigkeit solcher proteolytischer Stämme bei Hautproben wiesen im Versuch die Entstehung von Ammoniak und Konsistenzveränderungen (weiche Beschaffenheit) hin (3, 10).

Hinzuzufügen ist, daß Laborstämme mit der Zeit in ihren proteolytischen Eigenschaften nachlassen (1).

Die von den verschiedenen Autoren als *Serratia salinaria*, *Serratia cutirubra* (10), *Pseudomonas salinaria* (4) und als *Halobacter salinaria*, (1) beschriebenen Mikroorganismen werden nach Bergey (4) *Halobacterium salinarium* und *Halobacterium cutirubrum* genannt und gehören zur Familie *Pseudomonadaceae*.

Verschiedene Untersucher, u. a. Boidin, Jordan-Lloyd, Jullien, Robertson, Soudan, Stuart, Viard (3, 8, 9, 11, 12, 16, 18) beschäftigten sich mit der Möglichkeit, das Wachstum halophiler Bakterien auf gesalzene Häuten durch Zusatz verschiedener chemischer Substanzen zum Häutesalz zu unterbinden. Als wirksamste der untersuchten Substanzen erwies sich ein Salz-Naphtalin-Natriumkarbonatgemisch bei einer Konzentration von 2 % Naphtalin und 2,5 % Natriumkarbonat (9, 18). Nach drei Monaten verlor Naphtalin seine Wirksamkeit (11, 18).

## Eigene Untersuchungen

### 1. Bakteriologische Untersuchungen

Material und Methodik: Als Ausgangsmaterial dienten rot- und violettverfärbte Kalbfelle, die von zwei verschiedenen Häuteverwertungen stammten.

Für die Färbung mikroskopischer Präparate wurde die Methode nach Gram und außerdem eine Färbung mit Karbol-Gentianaviolett bei 3 Minuten dauernder Einwirkung des Farbstoffes gewählt. Die Fixation des Präparates erfolgte in beiden Fällen nach der Lufttrocknung mit Alkohol (5 Minuten lang).

Die kulturelle Züchtung der Bakterien wurde auf einem modifizierten Salzagar nach Dussault-Lacchance (7) mit folgender Zusammensetzung vorgenommen:

MgSO <sub>4</sub>	5 g	NaCl	200,0 g <sup>+</sup>
Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	1 g	Agar	2 %
FeCl <sub>3</sub>	0,025 g	Wasser	1000,0 ml
Pepton aus Fleisch	5 g	Hefeextrakt	0,5 %
Pepton aus Casein	5 g	Glukose	0,1 %
Lösliche Stärke	5 g	pH	7,6

<sup>+</sup> variabel nach gewünschter Konzentration.

Der Nachweis proteolytischer Tätigkeit erfolgte mit einem von Sreenivasan (13) modifizierten Salz-Milch-Agar nach Lochhead (10) mit der nachstehenden Zusammensetzung:

1. 500 ml sterile abgerahmte Milch

2. MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	10 g	3. Bacto-Agar (Difco)	15 g
KNO <sub>3</sub>	2 g	Neopepton (Difco)	5 g
NaCl	200 g	Glyzerin	10 g
FeCl <sub>3</sub>	0,025 g	Wasser	400 ml
in 1000 ml H <sub>2</sub> O		pH	7,6

Als flüssiges Nährmedium wurde die Zusammensetzung des oben erwähnten Salzagars ohne Agarzusatz gewählt.

Die Bebrütungstemperatur betrug +37°C. Bei den festen Nährmedien wurde eine durch Luftfeuchtemesser laufend kontrollierte relative Luftfeuchte von 70 bis 80 % durch Abdichtung der

Petrischalen erreicht.

Ergebnisse: Von rot- und violettverfärbten Kalbfellen, die von zwei verschiedenen Häuteverwertungen stammten, wurden in der Kultur rot wachsende Mikroorganismen isoliert. Sie zeigten auf festen Nährmedien (Salzagar, Milchsatzagar) mit einer Salzkonzentration von 20 % an aufwärts gutes Wachstum innerhalb 4 bis spätestens 10 Tagen bei +37°C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 70 bis 80 %. Die runden, glattrandigen, gewölbten und glänzenden Kolonien besaßen zu Beginn des Wachstums eine hellrote Farbe, die sich zu einem Zinnoberrot intensivierte.

In flüssigen Nährmedien trat erst nach 14 Tagen ein sehr schwaches Wachstum auf.

Mikroskopisch ließen sich im Nativpräparat, hergestellt aus 5 Tage alten Kolonien von 24 %igem Salzagar, bewegliche Stäbchen von einer Größe bis zu 5,0 x 0,8  $\mu$  nachweisen. Die Enden dieser Mikroorganismen waren meist verjüngt. Zum Teil ließen sich auch gewundene Formen erkennen.

In Phasenkontrastbild erschienen die beweglichen Bakterien oval bis lanzettförmig mit Ausmaßen von durchschnittlich 2,4 x 0,8  $\mu$ .

In gefärbten Präparaten (Gram, Karbolgentianaviolett) aus verschieden alten Kulturen die von Nährmedien unterschiedlichen Salzgehaltes und unterschiedlicher Zusammensetzung stammten, war die Vielgestalt der Bakterienformen auffallend. Neben pleomorphen Stäbchen mit Ausmaßen von 2,6 x 1,3  $\mu$  und kokkoiden Formen mit einem Durchmesser von 1,0 bis 1,5  $\mu$  (4 Tage alte Kolonien von 24 %igem Salzagar stammend) konnten auch die von Lochhead (10) beschriebenen Sprossungsformen beobachtet werden, die eine Größe von 3,3 x 2,7  $\mu$  mit einem Sproß von 1,0 bis 1,5  $\mu$  Größe aufwiesen. Besonderen Formenreichtum wiesen Ausstriche von 10 Tage alten Kulturen auf, die auf 25 %igem Salz-Milch-Medium gewachsen waren. Neben Formen mit einer Größe von 7,4 x 1,0  $\mu$  traten solche mit Ausmaßen von 3,3 x 3,7  $\mu$  auf.

Bei Überprüfung der biochemischen Eigenschaften konnte Proteolyse nachgewiesen werden.

Die isolierten Stämme wiesen in ihren kulturellen, morphologischen und biochemischen Eigenschaften weitgehende Übereinstimmung auf und wurden als zur Species *Halobacterium salinarium* und *Halobacterium cutirubrum* (Bergey (4)) gehörig angesprochen.

Außer den rot wachsenden Bakterien konnten violett wachsende Kolonien nach einmonatiger Bebrütung auf Salzagar gezüchtet werden, deren Farbbildung nach weiteren zwei Monaten besonders gut ausgeprägt war. Während des vierten Bebrütungsmonates blaßte die Farbe merklich ab. Um die Kolonien herum war während der gesamten Beobachtungszeit ein grau-gelb wachsender Hof sichtbar. Bemerkenswert war, daß die Kolonien bis zum Ende des vierten Monates hin 1 bis 2 mm tief in den Nährboden eingesunken waren.

Eine Weiterzüchtung der Kolonien auf festen Nährmedien und eine Darstellung der Mikroorganismen im gefärbten mikroskopischen Präparat gelang nicht.

## 2. Untersuchungen zur Verhütung des Wachstums rot wachsender halophiler Bakterien

Material und Methodik: Als Testkeime dienten die isolierten halophilen Bakterien.

Bei der Suche nach einer in bakteriologischer und lederchemischer Hinsicht für die Salzung von Häuten optimal wirkenden bakteriostatischen oder bakteriziden Substanz wurden verschiedene chemische Substanzen gegenüber halophilen Bakterien überprüft.

Die Überprüfung erfolgte in Anlehnung an die "Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel", herausgegeben von der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (5). Die in den Richtlinien festgelegten Vorschriften mußten aber variiert und den besonderen Anforderungen bei der bakteriologischen Arbeit mit halophilen Mikroorganismen angepaßt werden. So konnte auf Grund des schlechten Wachstums in flüssigem Nährmedium der unter Abschnitt I 1 der genannten Richtlinien angegebene Verdünnungstest zur Bestimmung der bakteriostatischen Wirkung nicht ausgeführt werden. Der unter Abschnitt I 2 angegebene Suspensionsversuch zur Bestimmung der bakteriziden

Wirkung einer Substanz wurde deshalb etwas abgewandelt und wie folgt ausgeführt: Zunächst wurde von Oberflächenkulturen der isolierten, oben besprochenen Bakterien mit gesättigter Kochsalzlösung eine Keimsuspension von der Dichte einer Bariumsulfatsuspension 97 : 3 (97 ml 1/10 m  $H_2SO_4$  + 3 ml 1/20 m  $BaCl_2$ ) hergestellt, die einer durch Oberflächenkeimzählung ermittelten Keimdichte von rund 10 Millionen halophilen Mikroorganismen auf 1 ml Keimsuspension entsprach. Zur Herstellung von verschiedenen Konzentrationen der auf ihre bakterizide Wirkung zu prüfenden Substanzen wurden diese entsprechend mit gesättigter Kochsalzlösung verdünnt. Die Prüfung erfolgte durch Einpipettieren von 0,1 ml der Keimsuspension bei Zimmertemperatur (+21°C) in die Mitte von Petrischalen und Zugabe von jeweils 10 ml der verschiedenen Verdünnungen der zu prüfenden Präparate. Nach den vorgesehenen Einwirkungszeiten wurden den Desinfektionsmittel-Keimgemischen jeweils 2 Ösen (innerer Durchmesser 2 mm) Material entnommen und auf eine Salzagar-Platte überimpft. Das Eintreten eventuellen Wachstums wurde bis zu 18 Tagen verfolgt. Allen Versuchsanordnungen liefen positive Kontrollen auf das Wachstum der verwendeten Keimsuspension und negative Kontrollen zur Überprüfung der Sterilität des verwendeten Salzagars parallel.

Zur Ausschaltung der bakteriziden Nachwirkung wurden sowohl 0,5 %iges Histidin als auch 1 %iges Tween 80 (jeweils in 20 %iger Salzbouillon) eingesetzt. 0,1 ml der genannten Enthemmungsmittel wurden auf dem festen Nährboden ausgespatelt, ehe die Bakterien-Desinfektionsmittel-Mischung überimpft wurde.

An diese Untersuchungen schloß sich die Prüfung von zur Verfügung gestellten Häutesalzmischungen auf ihre Fähigkeit, Rot- und Violettfärbungen auf gesalzene Häuten zu verhüten. Die Zusammensetzung dieser Salzmischungen basierte auf den aus den vorhergehenden Untersuchungen gewonnenen Erkenntnissen.

Aus diesen geprüften Salzen heraus wurde ein "Häutesalz Neu" entwickelt und zur Testung auf seine Wirksamkeit übergeben. Neben diesen Häutesalzen wurden noch folgende Salze in die Untersuchungen einbezogen:

Häutesalz + 0,25 % Mineralöl  
 Häutesalz + 0,1 % Petroleum  
 Häutesalz + 1,0 % Naphtalin  
 Häutesalz + 0,25 % Mineralöl + 1,0 % Naphtalin  
 Häutesalz + 0,1 % Petroleum + 1,0 % Naphtalin  
 Häutesalz + 4,0 % Soda + 1,0 % Naphtalin.

Bei den mineralöl- und petroleumhaltigen Salzen handelte es sich um Salze, die nach den Zollvorschriften vergällt wurden und zur Salzung von Rohhäuten verbreitet Anwendung finden. Der Zusatz von Naphtalin zu diesen Salzen wurde vorgenommen, um zu prüfen, inwieweit Naphtalin, das für sich allein einen hemmenden Einfluß auf die Vermehrung rot wachsender halophiler Bakterien aufweist, geeignet ist, die Verfärbung von Häuten zu verhüten. Außerdem sollte noch einmal die schon aus der Literatur bekannte Wirksamkeit einer Soda-Naphtalin-Salzmischung überprüft werden.

Zur Schaffung praxisnaher Verhältnisse fanden Kalbfelle, zugeschnitten auf eine Größe von etwa 6 x 12 cm, Verwendung. Diese Fellstücke wurden mit je 1 ml Keimsuspension (10 Mill. Keime) beimpft und auf das Gewicht geprüft. Die jeweils zur Verwendung gelangende Häutesalzmenge, 40 bis 45 % des Gewichtes des entsprechenden Fellstückes, lag zwischen 8 bis 12 Gramm bei Ausgangsgewichten von 17 bis 25 g pro Fellstück. Nach Verbringen der Häutesalze auf die zugeschnittenen und beimpften Fellstücke wurden diese auf die Hälfte zusammengefaltet in zuvor mit angefeuchtetem Filterpapier ausgelegte Petrischalendeckel eingelegt und mit einem gut auf den unteren Petrischalendeckel passenden weiteren Deckel verschlossen. Zur Haltung einer ausreichenden Luftfeuchte wurden die beiden Deckel mit Klebeband abgedichtet. Die Bebrütung erfolgte stets bei +37°C, in einigen Fällen zusätzlich bei +32°C und bei +22°C. Den Versuchen liefen negative Kontrollen in Form von unbeimpften, lediglich mit dem jeweils zu prüfenden Salz beschickten Fellstücken zur Überprüfung auf eventuelles Wachstum von mit den Fellen eingeschleppten halophilen Bakterien parallel. In die Kontrollschalen eingelegte Hygrometer dienten zur Überprüfung und Regelung einer relativen Luftfeuchte von 70 bis 80 %. Als positive Kon-

trollen wurden beimpfte Fellstückchen nur mit NaCl beschickt, so daß jeweils die verwendete Bakteriensuspension auf ihr Wachstum überprüft werden konnte. Die endgültige Ablesung erfolgte nach 5 bis 6 Wochen. Jedes zu prüfende Salz wurde in der oben beschriebenen Weise auf drei beimpften Fellstücken und einem unbeimpften Fellstückchen untersucht.

Ergebnisse: Die in Anlehnung an die "Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel" (5) durchgeführte Untersuchung von vier Substanzen in jeweils 4 doppelten Versuchsreihen mit je sieben Verdünnungsstufen der Substanzen erbrachte die Wirksamkeit aller dieser Stoffe gegenüber den eingesetzten Testbakterien. Die bakterizide Eigenschaft der geprüften Substanzen wurde nach Wirkstoffkonzentration und Wirkung in der Zeiteinheit festgelegt.

53 Häutesalzmischungen, deren verschiedene Zusammensetzung auf den aus den vorhergehenden Untersuchungen gewonnenen Erkenntnissen beruhte wurden in 7 Fällen in zwei Versuchsreihen und in 46 Fällen in 3 gleichlautenden Versuchsreihen also insgesamt in 152 Versuchsreihen, auf ihre Wirksamkeit gegenüber rot wachsenden halophilen Testbakterien unter Laboratoriumsbedingungen geprüft. Durch diese Untersuchungen konnten neuentwickelte Häutesalzgruppen guter bakterizider Wirkung abgegrenzt werden.

Das aus diesen Häutesalzgruppen entwickelte "Häutesalz Neu" vermochte unter Laboratoriumsbedingungen das Wachstum roter halophiler Bakterien zu unterbinden.

In Untersuchungen mit mineralölverfälichten und petroleumvergällten Salzen konnte in 5 Versuchsreihen festgestellt werden, daß durch diese Vergällungsmittel, besonders aber durch Petroleum, eine Begünstigung des Bakterienwachstums auftrat. Auch ein Zusatz von 1 % Naphtalin zu so vergällten Häutesalz vermochte in zwei Versuchsreihen das Wachstum der Testbakterien nicht zu verhindern. Häutesalz mit 1 %igem Zusatz von Naphtalin bei Anwesenheit von 4 % Soda zeigte eine gute Unterbindung des Bakterienwachstums.

Ergebnisse einer vergleichenden Untersuchung zur Wirksamkeit verschiedener Häutesalze bei unterschiedlichen Temperaturen gibt die nachstehende Tabelle wieder:

Tabelle

Salz- proben	Wachstum bei			Wachstum nach			
	+37°C	+32°C	+22°C	4 Tagen	6 Tagen	9 Tagen	21 Tag.
A	+	+	-		37°C, 32°C		
B	+	+	-		37°C	32°C	
C	+	+	+	37°C	32°C		22°C
D	(+)	-	-			37°C	
E	+	+	-		37°C	32°C	
F	+	+	+		37°C	32°C	22°C
G	-	-	-				
H	-	-	-				

Zeichenerklärung

- = kein Wachstum  
 + = Wachstum  
 (+) = schwaches Wachstum

Es ergibt sich damit, daß die Bakterien bei Anwesenheit von petroleumvergälltem Salz (C) bei +37°C nach 4 Tagen und bei +22°C nach 21 Tagen wuchsen. In Kochsalzmilieu (A) trat dagegen ein Wachstum erst nach 6 Tagen bei +37°C und bei +32°C auf. Bei +22°C war kein Wachstum zu verzeichnen. Häutesalz mit 1 % Naphtalin (D) vermochte nicht eine gänzliche Wachstumsunterdrückung herbeizuführen. Ein Zusatz von Naphtalin zu mit Petroleum (F) und Mineralöl vergälltem (E) Salz führte bei +37°C und +32°C und im Falle des Petroleums bei +22°C nicht zu einer Hemmung des Bakterienwachstums. Das mit Mineralöl vergällte Salz mit Zusatz von Naphtalin (E) brachte das gleiche Wachstumsergebnis wie mit Mineralöl vergälltes Häutesalz (B).

In keinem Temperaturbereich war dagegen Wachstum bei Anwesenheit von Häutesalz mit Soda und Naphtalin (G) und "Häutesalz Neu" (H) zu verzeichnen.

### Besprechung der Ergebnisse

In den untersuchten Fällen beruhte die Rotverfärbung von Häuten auf dem Wachstum rot wachsender halophiler Bakterien, die mikroskopisch dargestellt und kulturell gezüchtet werden konnten. Mit diesen Bakterien ließen sich auch experimentell Rotverfärbungen auf Hautproben hervorrufen. Die Mikroorganismen wurden als zur Familie Pseudomonadaceae (Bergey (4)) gehörig angesprochen.

Die Klärung der Violettverfärbung von Häuten gelang dagegen nicht eindeutig. Dieses negative Untersuchungsergebnis unterstricht die in der Literatur nur spärlich zu findenden Angaben über die Violettverfärbung von Häuten.

Die Untersuchungen zur Verhütung der mikrobiell bedingten Verfärbungen führten zu dem Ergebnis, daß das nach den Zollvorschriften zur Vergällung der Häutesalze verwandte Mineralöl (0,25 %) oder Petroleum (0,1 %) keinen hemmenden Einfluß auf das Wachstum der im Versuch verwandten Testbakterien zeigte, sondern eher wachstumsfördernd wirkte.

Auch ein Zusatz von 1 % Naphtalin zu so vergällten Häutesalz vermochte nicht das Wachstum der Teststämme zu unterdrücken.

Häutesalz mit 1 %igem Zusatz von Naphtalin bei Anwesenheit von 4 % Soda ließ eine Rotverfärbung nicht auftreten.

Die gleiche Wirkung zeigte das "Häutesalz Neu", das aus zahlreichen Untersuchungsreihen mit chemischen Substanzen und Häutesalzmischungen hervorging.

Solange die Verfärbung von Häuten und die dadurch bedingten Leder-schäden nicht durch hygienische Maßnahmen vermieden werden können, sollte ein gegenüber halophilen Bakterien wirksames Häutesalz für die Salzung von Rohhäuten Verwendung finden.

### Zusammenfassung

Insbesondere in der warmen Jahreszeit sind immer wieder Rot- und Violettverfärbungen auf gesalzene Häuten, besonders Kalbfellen, zu beobachten. Diese Verfärbungen bedingen an den Häuten Schäden, die sich auch in einer Wertminderung des Leders äußern. Als Ursache dieser Schäden kommen bestimmte halophile Keime in Betracht.

Von rotverfärbten Häuten wurden rot wachsende, halophile Keime isoliert. Ihr Wachstumsoptimum lag bei einer Temperatur von  $+37^{\circ}\text{C}$ , einer Luftfeuchte von etwa 80 % und einer Salzkonzentration im Nährmedium von 25 %. Es handelte sich um gramnegative Bakterien, die eine von der Zusammensetzung der Nährmedien und vom Alter der Kultur abhängige unterschiedliche Morphologie aufwiesen. Sie wurden der Familie Pseudomonadaceae zugeordnet.

Es konnte nachgewiesen werden, daß das zur Vergällung von Häutesalz verwendete Mineralöl oder Petroleum einen fördernden Einfluß auf das Wachstum der Bakterien ausübte. Besonders war dies bei mit Petroleum vergälltem Salz der Fall.

Eine Unterbindung des Bakterienwachstums zur Verhütung von Häuteschäden während einer Beobachtungszeit von 6 Wochen konnte mit einem neu entwickelten, von uns überprüften Häutesalz und mit einem ebenfalls überprüften Häutesalz, das 4 % Soda und 1 % Naphthalin enthielt, erreicht werden.

#### Literaturverzeichnis

1. Anderson, H.: The Reddening of Salted Hides and Fish. *Appl. Microbiology* 2, 64 (1954).
2. Bergmann, M.: On the Red Discoloration of Salted Hides and on Salt Stains. *J. Int. Soc. Leather Trades' Chemists* 13, 599 (1929).
3. Boidin, J., A.M. Ginisty: Bactéries provoquant des taches rouges sur peaux salées. *Bull. de l'Association Française des Chimistes des Industries du Cuir* 22, 205 (1960).
4. Breed, R.S., Murray, E.G., M.R. Smith: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 7 Ed. Baltimore 1957.
5. Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie: Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1959.
6. Dussault, H.P.: The Fate of Red Halophilic Bacteria in Solar Salt during Storage. *The Microbiology of Fish and Meat Curing Brines*. Proceedings of the 2. International Symposium on Food Microbiology, Cambridge, 1957.

7. Dussault, H.P., Ra.A. Lachance: Improved Medium for Red Halophilic Bacteria from Salt Fish.  
J. Fish. Res. Board, Canada 9, 157 (1952).
8. Jordan-Lloyd, D.: "Red Heat" in Salted Hides.  
J. Int. Soc. Leather Trades' Chemists, 13, 538 (1929).
9. Jullien, I.: Conservation des peaux par salage.  
Bull. de l'Association Française des Chimistes de l'Industrie du Cuir 23, 225 (1961).
10. Lochhead, A.G.: Bacteriological Studies on the Red Discoloration of Salted Hides.  
J. Bacteriol. 27, 61 (1934).
11. Robertson, M.E.: "Red Heat" - its Causes and Prevention.  
J. Int. Soc. Leather Trades' Chemists 16, 564 (1932).
12. Soudan, F.: Bactériologie du Sel et du Poisson salé.  
Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes 147 (1955).
13. Sreenivasan, A., R. Venkataraman: Media for the Study of Red Halophilic Bacteria.  
J. Sc. Ind. Res. New Delhi 15 C, 210 (1956).
14. Stather, F.: Haut- und Lederfehler.  
Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1952.
15. Stather, F.: "Rote Verfärbung" und "Rote Erhitzung" auf gesalzenen Häuten.  
Collegium 151 (1930).
16. Stuart, L.S., Frev, R.W., L.H. James: Microbiological Studies of Salt in Relation to the Reddening of Salted Hides.  
Techn. Bull. 383, U.S. Dept. Agric. Washington, 1 (1933).
17. Venkataraman, R., A. Sreenivasan: Red Halophilic Bacteria - The Identity of some well-known Species.  
Proc. Indian Ac. Sc. 43 B, 264 (1956).
18. Viard, M.: Das Einsalzen von Schafshaut.  
Konferenz vom 18. und 19. Oktober 1962 des Kongresses von Granhlet, Mazamet.