

Multiplicação dos bacterios em cultura.

I. Constante de velocidade de multiplicação
pelo

Dr. Alcides Godoy,

Assistente do Instituto.

Ueber die Vermehrung der Bacterien in den Culturen.

I. Die Constante ihrer Geschwindigkeit

von

Dr. Alcides Godoy,

Assistenten des Instituts.

Sobre a relação existente entre o numero de bacterios e o tempo de vejetação num meio de cultura não são muitos os trabalhos experimentais.

NAEGELI, por meio de uma formula deduzia da quantidade de acido formado, em tempos conhecidos, por um bacterio zimojenico, a quantidade total de elementos que havia no liquido em fermentação; este metodo de avaliação é assaz interessante, especialmente por ser um processo indireto de pesquisa, para o julgamento dos resultados obtidos por processo direto.

BUCHNER, LONGARD e RIEDLIN, partindo da idéa aprioristica que, sendo a segmentação dos bacterios a divizão transversal, resultando 2 unidades de cada celula preexistente, conclue d'aí que conhecido o numero de bacterios semeados (a), e os existentes no fim de certo tempo (b), se poderia determinar o numero de gerações (n) pela formula

$$n = \frac{\log. b - \log. a}{\log. 2}$$

conhecido o valor de n , o tempo necessário para a completa faze da vejetação a partir da divizão que originou a nova celula, até aquelle

Die experimentellen Arbeiten über die Beziehungen zwischen der Anzahl der Bacterien und ihrer Vegetationszeit in einem Kulturmedium sind keineswegs zahlreich. NAEGELI berechnete mit Hilfe einer Formel aus den, von einem Gährungsbacterium in bekannten Zeiträumen gebildeten, Säuremengen die Totalanzahl der in der Gährungsflüssigkeit vorhandenen Individuen; diese Schätzungsweise ist, gerade weil es sich um eine indirekte Untersuchungsmethode handelt, von bedeutendem Interesse für die Beurteilung der durch einen directen Prozess gewonnenen Resultate.

BUCHNER, LONGARD und RIEDLIN gingen von der aprioristischen Idee aus, dass die Teilung der Bacterien eine transversale ist und aus jeder ursprünglichen Zelle zwei Einheiten hervorgehen und schlossen daraus, dass, wenn die Anzahl der eingesäten Bacterien (a) und diejenige der nach einer bestimmten Zeit vorhandenen gegeben ist, man die Anzahl der Generationen aus folgender Formel bestimmen könne.

$$n = \frac{\text{Log. } b - \text{Log. } a}{\text{Log. } 2}$$

em que esta por sua vez, se desdobra, seria o quociente do numero de minutos decorridos na experienca pelo numero n de gerações formadas. Os autores não provam a exatidão da formula pela avaliação do numero de microbios em tempos diversos; só fazem duas determinações, a da quantidade semeada e a correspondente a certo tempo de vejetação. Julgam os autores que, sendo o tempo de duração da experienca apenas de algumas horas a influencia da diminuição de alimentos não se fará sentir na velocidade da multiplicação.

Este modo de considerar a multiplicação dos bacterios é demaziado elementar e simples, contrario ás leis de formação na natureza. Já RAULIN, em 1867, havia demonstrado que existe uma relação numerica constante entre o pezo do vegetal formado e o da substancia nutritiva dezaparecida do meio de cultura.

Funcionalmente podemos considerar as celulas, como porções limitadas de uma substancia — substancia de natureza quimica ainda desconhecida — possuindo a propriedade de aumentar de massa, desde que se lhe forneçam: os compostos quimicos necessarios a essa sintese, a energia preciza e condições favoraveis de meio. Seria a substancia viva, como que uma especie de catalizador capaz de aumentar a massa pela sua propria ação.

Na cultura dos microbios a equação da vida elementar manifestada

$$a + q = \lambda a + R$$

deverá encontrar a sua mais clara aplicação. Como se sabe, nesta equação, a reprezenta a substancia viva, q os alimentos, λ um coeficiente maior que a unidade, e R os rezíduos da assimilação.

Resulta disto que a quantidade de substancia a formada é função de q , caso o coeficiente λ não venha ainda por seu valor ser novo elemento para o calculo. No caso especial dos bacterios e nos meios de cultura de composição não completamente determinada, a avaliação direta de q é impossivel,

Wenn der Wert von n bekannt ist, so wäre die Zeit für die ganze Vegetationsphase, vom Moment der Teilung, welche die neue Zelle lieferte, bis zu dem, in welchem diese sich wiederum teilt, gleich dem Quotienten aus der Anzahl der verflossenen Minuten und der Zahl n der gebildeten Generationen. Die Autoren geben keinen Beweis der Richtigkeit ihrer Formel durch Schätzung der Keimzahl zu verschiedenen Zeiten, sondern machen nur zwei Bestimmungen, diejenige der eingesetzten Menge und eine solche, die einer bestimmten Vegetationszeit entspricht. Sie sind der Ansicht, dass, bei einer Versuchsdauer von nur einigen Stunden, der Einfluss der Verminderung der Nährstoffe auf die Vermehrungsgeschwindigkeit nicht bemerkbar werde.

Diese Auffassungsweise der Bacterienvermehrung ist allzu elementar und im Widerspruch zu den Bildungsgesetzen in der Natur. Schon RAULIN hat 1867 nachgewiesen, dass zwischen dem Gewichte des gebildeten Pflanzengewobes und der aus dem Nährmedium verschwundenen Nährsubstanz ein constantes Zahlenverhältniss besteht.

Functionell können die Zellen als begrenzte Teile einer — ihrer chemischen Natur nach unbekannten — Substanz aufgefasst werden, welche die Fähigkeit besitzen, an Masse zuzunehmen, sobald ihnen die zu dieser Synthese nötigen chemischen Verbindungen, die notwendige Energie und günstige Bedingungen des Mediums geboten werden. Es stellt somit die lebende Substanz eine Art Katalysator dar, der im Stande ist, seine Masse durch seine eigene Tätigkeit zu vermehren.

Bei der Kultur der Microben sollte die Gleichung der *elementaren Lebensäußerung*

$$a + q = \lambda a + R$$

ihre deutlichste Anwendung finden. Wie bekannt, bedeutet a die lebende Substanz, q die Nährstoffe, λ einen Coefficienten, der grösser ist, als die Einheit und R die Residuen der Assimilation.

Es folgt daraus, dass die gebildete Quantität der Substanz a eine Function von q ist, falls nicht der Coefficient λ durch seinen Wert ein neues Element in der Rechnung bildet.

porem a quantidade de α pôde ser determinada pelo numero de unidades formadas. As quantidades de bacterios formados e de alimentos existentes são inversas, isto é essencial ao modo de interpretar a experiência que segue e as conclusões que dela decorrem.

Procurámos indicar com precisão as condições de experiência. Evitámos as causas capazes de obscurecer o fenomeno, regularizando as necessarias e eliminando as nocivas. As medidas de volume, assim como as de temperatura comportam exatidão superior a 1%, e, na avaliação final das colonias de cada observação o erro não excede 4%.

Interpretados os resultados desta experiência, de acordo com o modo de ação das massas químicas, segundo a lei de GULDBERG e WAAGE, torna-se claro que a transformação dos alimentos, num meio nutritivo, em substancia viva — e, por conseguinte a formação de novas celulas — se faz pelo processo geral das ações químicas. E', pois, calculável em limites de tempo em que o coeficiente λ pelo seu valor não altera completamente a marcha da reação, pela formula das reações monomoleculares:

$$\frac{-dt}{dx} = Ck$$

O valor de k , constante de velocidade de reação é determinado com tal aproximação que põe fóra de duvida a aplicabilidade da formula.

Para verificarmos experimentalmente a concepção expandida procurámos estudar a multiplicação do bacilo tifico em um caldo de carne peptonizado a 1%, para o que adotámos a seguinte tecnica.

Tecnica. — A cerca de 10 c. c. de caldo adicionámos, de uma cultura de 12 horas, em caldo da mesma fabricação, a quantidade necessaria para se obter uma ligeira turvação; ligeira, porem bem nitida. Desta primeira diluição adicionámos 0,05 c. c. a segundo tubo com igual quantidade do mesmo caldo; da diluição assim preparada retirámos 0,05 c. c. para terceiro tubo. Naturalmente, agitavamos cuidadosamente a mistura de modo a se dar repartição uniforme dos germens

Im speciellen Falle der Bacterien und in Nährmedien von nicht genau definirter Zusammensetzung, ist die directe Schätzung von q unmöglich, dagegen kann die Quantität α aus der Zahl der gebildeten Einheiten bestimmt werden. Die Zahl der gebildeten Bacterien und die Menge der vorhandenen Nährstoffe verhalten sich umgekehrt, was für die Erklärung des nachstehenden Versuches und der daraus folgenden Schlüsse wesentlich ist.

Ich habe versucht, die Bedingungen des Versuches klar anzugeben und die Ursachen zu vermeiden, welche die Beobachtung zu trüben im Stande wären, indem ich die notwendigen Bedingungen regelte und die hinderlichen verhinderte. Die Messungen des Volumens und der Temperatur gestatten eine Genauigkeit, die mehr als ein Procent beträgt und bei der schliesslichen Schätzung der Colonien in jeder Beobachtung gehen die Irrtümer nicht über 4% hinaus. Deutet man die Resultate dieses Versuches in Uebereinstimmung mit der Wirkungsweise der chemischen Massen nach dem Gesetz von GULDBERG und WAAGE, so geht deutlich daraus hervor, dass in einem Culturmedium die Umwandlung der Nährstoffe in lebende Substanz und dem entsprechend auch die Bildung neuer Zellen nach dem allgemeinen Process der chemischen Vorgänge stattfindet. Sie lässt sich also innerhalb von Zeitgrenzen, zwischen welchen der Coefficient durch seinen Wert den Ablauf des Vorganges nicht gänzlich verändert, aus der Formel der monomolekulären Reactionen

$$\frac{-dt}{dx} = Ck$$

berechnen. Der Wert von k , der Constanten der Geschwindigkeit der Reaction, lässt sich mit einer derartigen Annäherung bestimmen, das die Anwendbarkeit der Formel nicht zu bezweifeln ist.

Um die auseinandergesetzte Auffassung experimentell zu controlliren, versuchte ich, die Vermehrung des Typhusbacillus in Nährbouillon mit 1% Pepton zu studiren, wobei ich mich folgender Technik bediente:

Technik. Zu ca. 10 c. c. Nährbouillon wurden von einer zwölfstündigen, in Bouillon

no caldo. Da ultima diluição assim obtida, retirámos com pipeta normal, 1,00 c. c. que colocavamos em tantos tubos quantas as observações que pretendíamos fazer. Os tubos de ensaio que empregámos eram de vidro rezistente de Ehrhardt e Metzger de Darmstadt, (R-Glas), e submetidos a ação do vapor d'água como indica ABEGG, e em seguida, depois de esgotados e secos eram fechados com rolha de borracha esterilizada pela ebulação e seca. Os tubos eram, então, levados a um termostato modelo OSTWALD, previamente regulado para a temperatura máxima provável do dia da experiência, 27,0 gráos centígrados; a água era mantida em contante agitação por meio de turbina. A temperatura da água oscilava em limites de 0,05 de gráo. A temperatura do exterior era, na ocasião da colocação dos tubos no termostato, de 26°, e pouco decreceu no decurso dos 105 minutos que durou a experiência. Os tubos, apesar disto, permaneceram sempre no termostato e somente ficaram á temperatura do laboratório o tempo estritamente necessário para nelles se colocar o agar e derramalo em placas. Depois de feita a I observação — tempo 0 — analoga ás adiante descritas, retiravamos, de 15 em 15 minutos, um tubo ao qual adicionavamos 10 c. c. de agar fundido e esfriado a 44°. O tubo era agitado 5 vezes por movimento de bascula, para igual repartição dos microbios; o agar era então derramado em placas de Petri. Com cada tubo fazíamos 2 placas: a 1.^a, na qual havia uma camada de agar que se gelificára, estando a placa imovel, de modo a formar superficie horizontal, recebia o agar semeado. Esta 1.^a placa recebia a quasi totalidade dos germens. No tubo com o qual se tinha preparado a 1.^a placa derramava-se nova porção de agar fundido e esfriado a 44°, destinado a acarretar os microbios existentes na porção restante de agar aderente as paredes do tubo. Com esta nova porção de agar preparava-se a 2.^a placa pelo processo habitual.

As placas assim feitas apóz completa gelificação — cerca de 10 minutos — eram levadas para estufa regulada a 37°. No in-

derselben Herstellung gemacht, Kultur so viel zugesetzt, als nöthig war, um eine leichte, aber deutliche, Trübung zu erzielen. Von dieser ersten Verdünnung wurden 0,05 cc. einem Tubus zugesetzt, der eine gleiche Quantität der gleichen Nährflüssigkeit enthielt; von der so hergestellten Verdünnung entnahm ich 0,05 cc. für einen dritten Tubus. Natürlich wurden die Mischungen sorgfältig geschüttelt, um eine gleichmässige Verteilung der Keime in der Bouillon zu erzielen. Von der letzten so hergestellten Verdünnung entnahm ich mit einer Normalpipette je 1 cc. für so viele Tuben, als ich zu den Beobachtungen gebrauchte. Die verwendeten Reagenzgläschen waren aus R-Glas von EHRHARDT und METZGER in Darmstadt und wurden nach der Angabe von ABEGG mit Wasserdampf behandelt und nach dem Trocknen mit einem, durch Auskochen sterilisierten, trockenen Gummipropfen verschlossen. Die Röhrchen wurden hierauf in einen Thermostaten von OSTWALD gebracht, der zuvor für die wahrscheinliche Maximaltemperatur des Versuchstages, 27° Centigrade, regulirt war, wobei das Wasser durch eine Turbine in beständiger Bewegung erhalten wurde. Die Wärme des Wassers schwankte innerhalb einer Grenze von 0,05 Graden, während die Aussentemperatur 26° betrug, als die Röhrchen in den Thermostaten gebracht wurden und während der 105 Minuten, welche der Versuch dauerte, nur wenig abnahm. Uebrigens blieben die Tuben doch immer im Thermostaten und wurden der Laboratoriumstemperatur nur so lange ausgesetzt, als für den Zusatz von Agar und das Giessen von Platten unbedingt nötig war. Nachdem die erste Beobachtung (Zeit = Null) nach Art der unten beschriebenen gemacht war, entnahm ich von 15 zu 15 Minuten ein Röhrchen, dem ich 10 cc. geschmolzenen und auf 44° abgekühlten Agars zusetzte: Dasselbe wurde fünf mal durch Schaukelbewegung geschüttelt, um eine gleichmässige Verteilung der Microben zu erzielen und der Agar darauf in Petrischalen ausgegossen. Mit jedem Tubus machte ich zwei Platten; die erste enthielt eine Agarschicht, welche ohne Bewegung der Platte erstarrt war, sodass sie eine horizontale Oberfläche darbot

terior desta o ar não era artificialmente humidecido, o que, favorecendo a dessecação do meio nutritivo evitava um crescimento exagerado e a confluencia das colonias superficiais. As placas ficavam na estufa, cobertas apenas com o papel de filtro que tinha sido colocado na face interna da tampa, antes da esterilização.

Depois de 24 horas de estufa eram as placas d'aí retiradas e contadas as colonias. A contagem se fazia em aparelho por nós idéado e que oferece a vantagem da vizão simultanea, em mesmo plano das colonias e das divisões de escala semelhante a de BUERKER, para contagem de globulos sanguíneos, porém 21,5 vezes maior. Sob cada placa traçavamos dois diametros perpendiculares, limitando, assim, os quadrantes, e contavamos em cada quadrante a superficie de 4,622 cm.² — 4 series horizontais de quadrados formam um quadrado grande, correspondente à superficie acima indicada. — Depois, contavamos sobre as linhas limitadoras outras tantas unidades de superficie. Obtínhamos assim 8 series de contagens. Cada serie é, na experiência, representada pela soma de 4 parcelas formadas pelo numero de colonias contidas nas series horizontais de pequenos quadrados. Nossa unidade de superficie é $\frac{1}{9}$, da escala de BUERKER aumentada 21,5 vezes.

Todas as colonias desenvolvidas na 2.^a placa eram contadas diretamente, sem recorrer ao aparelho, marcando-se o lugar de cada colonia com um ponto de tinta, o que pôde sempre ser feito visto como, nessa placa, o numero de colonias é sempre pequeno. Contadas as 8 series da 1.^a placa, somam-se os seus valores para determinação do valor medio da serie. Determina-se a diferença que cada serie faz com esse valor medio; somam-se estas diferenças depois de elevadas ao quadrado. Dividindo-se o numero obtido por 56, a sua raiz quadrada dá o erro provável para cada serie; isto, segundo a conhecida formula

$$F = \pm \sqrt{\sum d^2/n(n-1)}$$

und wurde mit dem besäten Agar beschickt; sie enthielt nahezu die gesamte Menge der Keime. In das Röhrchen, welches zur Herstellung der ersten Platte gedient hatte, wurde eine neue Portion geschmolzen und auf 44° abgekühlten Agars eingegossen, um die — in der noch zurückgebliebenen, den Wänden des Tubus anhaftenden, Agarmenge vorhandenen — Keime herauszuspülen; mit dieser neuen Agarportion wurde die zweite Platte auf gewöhnliche Weise angefertigt. Die so hergestellten Platten wurden nach vollständiger Gerinnung, d. h. nach ca. 10 Minuten, in einen auf 37° regulirten Brütschrank gebracht; die Luft im Innern des Letzteren war nicht künstlich feucht gemacht, sodass durch Begünstigung der Austrocknung des Nährbodens ein übertriebenes Wachstum und ein Zusammenfliessen der oberflächlichen Colonien vermieden wurde. Die Platten blieben im Brütschrank nur mit dem Filtrerpapier bedeckt, welches vor der Sterilisirung in die Innenseite des Deckels eingelegt worden war.

Nach 24 Stunden wurden die Platten aus dem Brütschrank entnommen und die Colonien gezählt. Die Zählung geschah mit Hilfe eines von mir ersonnenen Apparates, welcher den Vorzug bietet, dass man gleichzeitig in einer Ebene die Colonien und die Abteilungen einer Scala erblickt. Letztere gleicht derjenigen von BÜRKER für die Zählung der Blutkörperchen, jedoch 21,5 mal grösser. Auf jeder Platte zeichnete ich zwei senkrechte Diameter und zählte auf jedem der so entstandenen Quadranten die Oberfläche von 4,622 Quadratcentimeter, was einem grossen, aus 4 horizontalen Serien kleiner Quadrate gebildeten, Vierecke entspricht. Dann zählte ich auf den Begrenzungslinien ebensoviele Oberflächeneinheiten und erhielt so acht Zählungsreihen. Jede Serie ist in dem Versuche durch die Summe von vier Zahlen vertreten, welche jeweilen der Anzahl der, in den Horizontalreihen von kleinen Quadraten enthaltenen, Colonien entsprechen. Meine Oberflächeneinheit ist gleich einer 21,5-fachen Vergrösserung des neunten Teiles einer Bürkerschen Scala.

Alle in der zweiten Platte entwickelten Colonien wurden direct gezählt, indem der

Determinado assim o valor medio de cada serie e seu erro medio provavel, são elles multiplicados pelo quociente da area da placa, pela superficie contada, em cada serie. Este produto reprezenta o numero total de colonias da 1.^a placa e seu erro medio provavel. Adicionado á esse valor o numero de colonias encontradas na segunda placa, tinhamos o numero total de microbios existentes em cada tubo, na ocazião de se fazer nelle a adição de agar.

Fizemos as 8 observações seguintes:

Ort jeder Colonie durch einen Tintenpunkt markirt wurde, was vollständig genügt, da die Anzahl der Colonien auf dieser Platte immer eine geringe ist. Nachdem die acht Serien der ersten Platten gezählt sind, summirt man die Beträge, um den Mittelwert der Serie zu bestimmen. Für jede Serie bestimmt man den Unterschied von diesem Mittelwerte und summirt diese Differenzen, nachdem man sie ins Quadrat erhoben hat. Wenn man die Summe durch 56 dividirt, so ergiebt ihre Quadratwurzel den wahrscheinlichen Durchschnittsfehler für jede Serie nach der bekannten Formel:

$$F = \pm \sqrt{\frac{\sum d^2}{n(n-1)}}$$

Wenn so für jede Serie der Durchschnittswert und der wahrscheinliche Durchschnittsfehler bestimmt ist, wird er in jeder Serie mit den Quotienten aus der Oberfläche der Platte und der gezählten Oberfläche multiplizirt; das Product ergibt die Gesamtzahl der Colonien der ersten Platte und den wahrscheinlichen Durchschnittsfehler. Durch Addition dieses Wertes zu der Gesamtzahl der auf der zweiten Platte gefundenen Colonien erhielt ich die Gesamtzahl der Keime, welche in jedem Röhrchen vorhanden waren, als ihm der Agar zugesetzt wurde.

Ich machte die acht folgenden Beobachtungen:

I OBSERVAÇÃO
(0 minutos)

Área da 1.^a placa = 63,61 cm.².
Superfície contada em cada série = 4,622 cm.².

Contagem da Série N.							
1	2	3	4	5	6	7	8
23	32	29	36	26	34	36	25
25	44	29	26	26	34	28	29
29	22	39	29	28	31	24	23
25	25	27	28	33	36	23	27
102	123	124	119	113	135	111	104

Series	Somas	d	d ²
1	102	14	196
2	123	7	49
3	124	8	64
4	119	3	9
5	113	3	9
6	135	19	361
7	111	5	25
8	104	12	144
	931		857

$$\text{Média das séries} = \frac{931}{8} = 116$$

$$\text{Erro médio da média} = \pm \sqrt{\frac{857}{56}} = \pm 4$$

Total e erro médio 1.^a placa

$$116 \pm 4 \cdot 13,76 = 1596 \pm 56$$

$$1.\text{a placa} = \dots \quad 1596 \pm 56$$

$$2.\text{a} \quad \dots = \dots \quad \underline{\underline{47}}$$

$$\text{Total I e erro médio} = \dots \quad \underline{\underline{1643 \pm 56}}$$

BEOBACHTUNG I
(0 Minuten)

Flächeninhalt der Platte = 63,61 cm².
In jeder Serie gezählte Oberfläche = 4,622 cm².

Zählung der Serien N.							
1	2	3	4	5	6	7	8
23	32	29	36	26	34	36	25
25	44	29	26	26	34	28	29
29	22	39	29	28	31	24	23
25	25	27	28	33	36	23	27
102	123	124	119	113	135	111	104

Serien	Summen	d	d ²
1	102	14	196
2	123	7	49
3	124	8	64
4	119	3	9
5	113	3	9
6	135	19	361
7	111	5	25
8	104	12	144
	931		857

$$\text{Mittel der Serien} = \frac{931}{8} = 116$$

$$\text{Durchschnittsfehler} = \pm \sqrt{\frac{857}{56}} = \pm 4$$

Total und Durchschnittsfehler Erste Platte
116 ± 4 · 13,76 = 1596 ± 56

$$\text{Erste Platte} = \dots \quad 1596 \pm 56$$

$$\text{Zweite Platte} = \dots \quad \underline{\underline{47}} =$$

$$\text{Total von I und Durch-} \\ \text{schnittsfehler} = \dots \quad 1643 \pm 56$$

II OBSERVAÇÃO

(15 minutos)

Área da 1.^a placa = 66,47 cm².Superfície contada em cada série = 4.622 cm².

Contagem da Série N.							
1	2	3	4	5	6	7	8
35	37	34	24	28	31	28	29
25	36	32	25	26	41	29	23
32	25	25	36	19	22	28	37
29	31	25	32	30	26	27	31
121	129	116	117	103	120	112	120

Series	Somas	d	d ²
1	121	4	16
2	129	12	144
3	116	1	1
4	117	0	0
5	103	14	196
6	120	3	9
7	112	5	25
8	120	3	9
	938		400

$$\text{Média das séries} = \frac{938}{8} = 117$$

$$\text{Erro médio da média} = \pm \sqrt{\frac{400}{56}} = \pm 3$$

Total e erro médio 1.^a placa

$$117 \pm 3 \cdot 14,38 = 1682 \pm 43$$

$$1.\text{a placa} = \dots \quad 1682 \pm 43$$

$$2.\text{a placa} = \dots \quad \underline{41}$$

$$\text{Total II e erro médio} = \dots \quad \underline{1723 \pm 43}$$

BEOBACHTUNG II

(15 Minuten)

Oberfläche der ersten Platte = 66,47 cm².In jeder Serie gezählte Oberfläche = 4,622 cm².

Zählung der Serien N.							
1	2	3	4	5	6	7	8
35	37	34	24	28	31	28	29
25	36	32	25	26	41	29	23
32	25	25	36	19	22	28	37
29	31	25	32	30	26	27	31
121	129	116	117	103	120	113	120

Serien	Summen	d	d ²
1	121	4	16
2	129	12	144
3	116	1	1
4	117	0	0
5	103	14	196
6	120	3	9
7	112	5	25
8	120	3	9
	938		400

$$\text{Mittel der Serien} = \frac{933}{8} = 117$$

Durchschnittsfehler des Mittels =

$$= \pm \sqrt{\frac{400}{56}} = \pm 3$$

Total und Durchschnittsfehler Zweite Platte

$$117 \pm 3 \cdot 14,38 = 1632 \pm 43$$

$$\text{Erste Platte} = \dots \quad 1682 \pm 43$$

$$\text{Zweite Platte} = \dots \quad \underline{41}$$

$$\text{Total von II und Durch-} \\ \text{schnittsfehler} = \dots \quad 1723 \pm 43$$

III OBSERVAÇÃO

(30 minutos)

Area da 1.^a placa = 59,44 cm.².Superficie contada em cada serie = 4,622 cm.².

Contagem da Serie N.							
1	2	3	4	5	6	7	8
33	30	32	40	26	44	39	27
22	35	42	41	26	38	40	33
34	28	26	43	33	37	31	32
39	44	32	37	33	39	30	40
128	137	132	151	118	158	140	152

Series	Somas	d	d ²
1	128	11	121
2	137	2	4
3	132	7	49
4	151	12	144
5	118	21	441
6	158	19	261
7	140	1	1
8	152	13	169
	1116		1290

$$\text{Media das series} = \frac{1116}{8} = 139$$

$$\text{Erro medio da media} = \pm \sqrt{\frac{1296}{56}} = \pm 5$$

Total e erro medio 1.^a placa

$$139 \pm 5 \cdot 12,86 = 1787 \pm 64$$

$$1.^{\text{a}} \text{ placa} = \dots \quad 1787 \pm 64$$

$$2.^{\text{a}} \text{ placa} = \dots \quad \underline{\underline{83}}$$

$$\text{Total III e erro medio} = \underline{\underline{1870 \pm 64}}$$

BEOBACHTUNG III

(30 Minuten)

Oberfläche der ersten Platte = 59,44 cm².In jeder Serie gezählte Oberfläche = 4,622 cm².

Zählung der Serien N.							
1	2	3	4	5	6	7	8
33	30	32	40	26	44	39	27
22	35	42	41	26	38	40	33
34	28	26	43	33	37	31	32
39	44	32	37	33	39	30	40
128	137	132	151	118	158	140	152

Serien	Summen	d	d ²
1	128	11	121
2	137	2	4
3	132	7	49
4	151	12	144
5	118	21	441
6	158	19	261
7	140	1	1
8	152	13	169
	1116		1290

$$\text{Mittel der Serien} = \frac{1116}{8} = 139$$

Durchschnittsfehler des Mittels =

$$= \pm \sqrt{\frac{1396}{56}} = \pm 5$$

Total und Durchschnittsfehler Dritte Platte

$$139 \pm 5 \cdot 12,86 = 1787 \pm 64$$

$$\text{Erste Platte} = \dots \quad 1787 \pm 64$$

$$\text{Zweite Platte} = \dots \quad \underline{\underline{83}}$$

$$\text{Total von III und Durchschnittsfehler} = \dots \quad 1870 \pm 64$$

IV OBSERVAÇÃO
(45 minutos)

Área da 1.ª placa = 62,21 cm.².
Superfície contada em cada série = 4,622 cm.².

Contagem da Série N.							
1	2	3	4	5	6	7	8
28	25	40	37	38	41	35	46
33	33	26	31	29	40	38	37
30	37	36	37	41	35	32	39
42	34	39	36	35	32	22	40
<u>133</u>	<u>129</u>	<u>141</u>	<u>141</u>	<u>143</u>	<u>148</u>	<u>127</u>	<u>162</u>

Series	Somas	d	d ²
1	133	7	49
2	129	11	121
3	141	1	1
4	141	1	1
5	143	3	9
6	148	8	64
7	127	13	169
8	<u>162</u>	22	<u>484</u>
	<u>1124</u>		<u>898</u>

$$\text{Média das séries} = \frac{1124}{8} = 140$$

$$\text{Erro médio da média} = \pm \sqrt{\frac{898}{56}} = \pm 4$$

Total e erro médio 1.ª placa

$$140 \pm 4 \cdot 13,46 = 1884 \pm 54$$

$$1.^\circ \text{ placa} = \dots \quad 1884 \pm 54$$

$$2.^\circ \text{ placa} = \dots \quad \underline{\underline{87}}$$

$$\text{Total IV e erro médio} = \dots \quad \underline{\underline{1971 \pm 54}}$$

BEOBACHTUNG IV
(45 Minuten)

Oberfläche der ersten Platte = 62,21 cm².
In jeder Serie gezählte Oberfläche = 4,622 cm².

Zählung der Serien N.							
1	2	3	4	5	6	7	8
28	25	40	37	38	41	35	46
33	33	26	31	29	40	38	37
30	37	36	37	41	35	32	39
42	34	39	36	35	32	22	40
<u>133</u>	<u>129</u>	<u>141</u>	<u>141</u>	<u>143</u>	<u>148</u>	<u>127</u>	<u>162</u>

Serien	Summen	d	d ²
1	133	7	49
2	129	11	121
3	141	1	1
4	141	1	1
5	143	3	9
6	148	8	64
7	127	13	169
8	<u>162</u>	22	<u>484</u>
	<u>1124</u>		<u>898</u>

$$\text{Mittel der Serien} = \frac{1124}{8} = 140$$

Durchschnittsfehler des Mittels =

$$= \pm \sqrt{\frac{898}{56}} = \pm 4$$

$$\text{Total und Durchschnittsfehler Erste Platte} \\ 140 \pm 4 \cdot 13,46 = 1884 \pm 54$$

$$\text{Erste Platte} = \dots \quad 1884 \pm 54$$

$$\text{Zweite Platte} = \dots \quad \underline{\underline{87}}$$

$$\text{Total von IV und Durch-} \\ \text{schnittsfehler} = \dots \quad 1971 \pm 54$$

V OBSERVAÇÃO

(60 minutos)

Área da 1.a placa = 63,6 cm.².Superfície contada em cada série = 4,622 cm.².

Contagem da Serie N.							
1	2	3	4	5	6	7	8
32	33	33	46	27	38	40	40
31	28	37	36	29	40	30	45
36	35	38	32	34	38	39	26
36	42	41	32	30	37	42	34
135	138	149	146	120	153	151	145

Series	Somas	d	d ²
1	135	7	49
2	138	4	16
3	149	7	49
4	146	4	16
5	120	22	484
6	153	11	121
7	151	9	81
8	145	3	9
	1137		825

$$\text{Media das series} = \frac{1137}{8} = 142$$

$$\text{Erro medio da media} = \pm \sqrt{\frac{825}{56}} = \pm 4$$

Total e erro medio 1.a placa

$$142 \pm 4 \cdot 13,76 = 1954 \pm 55$$

$$1.\text{a placa} = \dots \quad 1954 \pm 55$$

$$2.\text{a placa} = \dots \quad \underline{\underline{92}}$$

$$\text{Total V e erro medio} = \dots \quad \underline{\underline{2036 \pm 55}}$$

BEOBACHTUNG V

(60 Minuten)

Oberfläche der ersten Platte = 63,61 cm².In jeder Serie gezählte Oberfläche = 4,622 cm².

Zählung der Serien N.							
1	2	3	4	5	6	7	8
32	33	33	46	27	38	40	40
31	28	37	36	29	40	30	45
36	35	38	32	34	38	39	26
36	42	41	32	37	42	42	34
135	138	149	146	120	153	151	145

Serien	Summen	d	d ²
1	135	7	49
2	138	4	16
3	149	7	49
4	146	4	16
5	120	22	484
6	153	11	121
7	151	9	81
8	145	3	9
	1137		825

$$\text{Mittel der Serien} = \frac{1137}{8} = 142$$

Durchschnittsfehler des Mittels =

$$= \pm \sqrt{\frac{825}{56}} = \pm 4$$

Total und Durchschnittsfehler Erste Platte

$$142 \pm 4 \cdot 13,76 = 1954 \pm 55$$

$$\text{Erste Platte} = \dots \quad 1954 \pm 55$$

$$\text{Zweite Platte} = \dots \quad \underline{\underline{82}}$$

$$\text{Total von V und Durch- schnittsfehler} = \dots \quad 2036 \pm 55$$

VI OBSERVAÇÃO

(75 minutos)

Área da 1.^a placa = 65,03 cm.².Superfície contada em cada série = 4,622 cm.².

Contagem da Série N.							
1	2	3	4	5	6	7	8
40	30	39	30	51	34	38	23
42	37	33	36	36	40	33	43
33	42	31	30	34	36	41	27
28	32	35	30	36	39	48	40
<u>143</u>	<u>141</u>	<u>138</u>	<u>136</u>	<u>157</u>	<u>149</u>	<u>150</u>	<u>133</u>

Series	Somas	d	d ²
1	143	0	0
2	141	2	4
3	138	5	25
4	136	7	49
5	157	14	196
6	149	6	36
7	150	7	49
8	<u>133</u>	10	<u>100</u>
	<u>1147</u>		<u>459</u>

$$\text{Média das séries} = \frac{1147}{8} = 143$$

$$\text{Erro médio da média} = \pm \sqrt{\frac{459}{56}} = \pm 3$$

Total e erro médio 1.^a placa

$$143 \pm 3 \cdot 14,07 = 2011 \pm 42$$

$$1.^{\text{a}} \text{ placa} = 2011 \pm 42$$

$$2.^{\text{a}} \text{ placa} = \underline{90}$$

$$\text{Total VI e erro médio} = . 2101 \pm 42$$

BEOBACHTUNG VI

(75 Minuten)

Oberfläche der ersten Platte = 65,03 cm².In jeder Serie gezählte Oberfläche = 4,622 cm².

Zählung der Serien N.							
1	2	3	4	5	6	7	8
40	30	39	30	51	34	38	23
42	37	33	36	36	40	33	43
33	42	31	30	34	36	31	27
28	32	35	30	36	39	36	40
<u>143</u>	<u>141</u>	<u>138</u>	<u>136</u>	<u>157</u>	<u>149</u>	<u>150</u>	<u>133</u>

Serien	Summen	d	d ²
1	143	0	0
2	241	2	4
3	138	5	25
4	136	7	49
5	157	14	196
6	149	6	36
7	150	7	49
8	<u>133</u>	10	<u>100</u>
	<u>1147</u>		<u>459</u>

$$\text{Mittel der Serien} = \frac{1147}{8} = 143$$

Durchschnittsfehler des Mittels =

$$= \pm \sqrt{\frac{459}{56}} = \pm 3$$

Total und Durchschnittsfehler Erste Platte

$$143 \pm 3 \cdot 14,07 = 2011 \pm 42$$

$$\text{Erste Platte} = 2011 \pm 42$$

$$\text{Zweite Platte} = \underline{90}$$

$$\text{Total von VI und Durch- schnittsfehler} = 2101 \pm 42$$

VII OBSERVAÇÃO

(90 minutos)

Area da 1.^a placa = 66,47 cm².

Superficie contada em cada serie = 4,622 cm².

Contagem da Serie N.							
1	2	3	4	5	6	7	8
33	29	42	37	35	33	35	39
34	39	38	49	33	42	46	40
28	53	39	30	38	43	42	36
38	33	22	47	29	38	34	38
<u>133</u>	<u>154</u>	<u>141</u>	<u>173</u>	<u>135</u>	<u>156</u>	<u>157</u>	<u>153</u>

Series	Semas	d	d ²
1	133	17	289
2	154	4	16
3	141	9	81
4	173	23	529
5	135	15	225
6	156	6	36
7	157	7	49
8	<u>153</u>	3	<u>9</u>
	1202		1234

$$\text{Media das series} = \frac{1202}{8} = 150$$

$$\text{Erro medio da media} = \pm \sqrt{\frac{1234}{56}} = \pm 22$$

Total e erro medio 1.^a placa

$$150 \pm 22 \cdot 14,38 = 2157 \pm 316$$

$$1.^{\text{a}} \text{ placa} = \dots \quad 2157 \pm 316$$

$$2.^{\text{a}} \text{ placa} = \dots \quad \underline{98}$$

$$\text{Total VII e erro medio} = \dots \quad 2255 \pm 316$$

BEOBACHTUNG VII

(90 Minuten)

Oberfläche der ersten Platte = 66,47 cm².

In jeder Serie gezählte Oberfläche = 4,622 cm².

Zählung der Serien N.							
1	2	3	4	5	6	7	8
33	29	42	37	35	33	35	39
34	39	38	49	33	42	46	40
28	53	39	30	38	43	42	36
38	33	22	47	29	38	34	38
<u>133</u>	<u>154</u>	<u>141</u>	<u>173</u>	<u>135</u>	<u>156</u>	<u>157</u>	<u>153</u>

Serien	Summen	d	d ²
1	133	17	289
2	154	4	16
3	141	9	81
4	173	23	529
5	135	15	225
6	156	6	36
7	157	7	49
8	<u>153</u>	3	<u>9</u>
	1202		1234

$$\text{Mittel der Serien} = \frac{1202}{8} = 150$$

Durchschnittsfehler des Mittels =

$$= \pm \sqrt{\frac{1234}{56}} = \pm 22$$

Total und Durchschnittsfehler Erste Platte

$$150 \pm 22 \cdot 14,38 = 2157 \pm 316$$

$$\text{Erste Platte} = \dots \quad 2157 \pm 316$$

$$\text{Zweite Platte} = \dots \quad \underline{98}$$

$$\text{Total von VII und Durch-} \\ \text{schnittsfehler} = \dots \quad 2255 \pm 316$$

VIII OBSERVAÇÃO

(105 minutos)

Área da 1.^a placa = 63,61 cm.².Superfície contada em cada série = 4,622 cm.².

Contagem da Série N.							
1	2	3	4	5	6	7	8
39	35	43	35	39	35	22	41
45	33	34	41	39	46	44	38
38	42	51	33	41	40	41	43
33	47	39	40	36	40	41	37
<u>155</u>	<u>157</u>	<u>167</u>	<u>149</u>	<u>155</u>	<u>161</u>	<u>148</u>	<u>159</u>

Series	Somas	d	d ²
1	155	1	1
2	157	1	1
3	167	11	121
4	149	7	49
5	155	1	1
6	161	5	25
7	148	8	64
8	<u>159</u>	<u>3</u>	<u>9</u>
	<u>1251</u>	<u>271</u>	

$$\text{Media das series} = \frac{1251}{8} = 156$$

$$\text{Erro medio da media} = \pm \sqrt{\frac{271}{56}} = \pm 2$$

Total e erro medio 1.^a placa

$$156 \pm 2 \cdot 13,76 = 2147 \pm 27$$

$$1.\text{a placa} = \dots \quad 2147 \pm 27$$

$$2.\text{a placa} = \dots \quad \underline{\underline{78}}$$

$$\text{Total VIII e erro medio} = 2225 \pm 27$$

BEOBACHTUNG VIII

(105 Minuten)

Oberfläche der ersten Platte = 63,61 cm².In jeder Serie gezählte Oberfläche = 4,622 cm².

Zählung der Serien N.							
1	2	3	4	5	6	7	8
39	35	43	35	39	35	35	22
45	33	34	41	39	46	44	38
38	42	51	33	41	40	41	43
33	47	39	40	36	40	41	37
<u>155</u>	<u>157</u>	<u>167</u>	<u>149</u>	<u>155</u>	<u>161</u>	<u>148</u>	<u>159</u>
Serien	Summen	d	d ²				
1	155	1	1				
2	157	1	1				
3	167	11	121				
4	149	7	49				
5	155	1	1				
6	161	5	25				
7	148	8	64				
8	<u>159</u>	<u>3</u>	<u>9</u>				
	<u>1251</u>	<u>271</u>					

$$\text{Mittel der Serien} = \frac{1251}{8} = 156$$

Durchschnittsfehler des Mittels =

$$= \pm \sqrt{\frac{271}{56}} = \pm 2$$

Total und Durchschnittsfehler Erste Platte

$$156 \pm 2 \cdot 13,76 = 2147 \pm 27$$

$$\text{Erste Platte} = \dots \quad 2147 \pm 27$$

$$\text{Zweite Platte} = \dots \quad \underline{\underline{78}}$$

$$\text{Total von VIII und Durch-} \\ \text{schnittsfehler} = \dots \quad 2225 \pm 27$$

São estes os numeros totais de colonias e seu erro medio em cada observação, e, como é mais correto e traz simplificação ao calculo escrevemos sómente os 3 primeiros algarismos, separando por um ponto a caza dos milhares:

Observação	Total de colonias e erro provavel
I	1.64 ± 0.05
II	1.72 ± 0.04
III	1.87 ± 0.06
IV	1.97 ± 0.05
V	2.03 ± 0.05
VI	2.10 ± 0.04
VII	2.25 ± 0.316
VIII	2.22 ± 0.02

Dos valores acima podemos deduzir o numero de microbios formados durante as fases da experiencia. A variação para mais ou para menos dos valores de cada observação, resultante do erro de contagem, faz com que tenhamos, para cada observação, dois valores um maximo e um minimo:

Observação	max.	min.
I	1.69	1.59
II	1.76	1.68
III	1.93	1.81
IV	2.02	1.92
V	2.08	1.98
VI	2.14	2.06
VII	2.56	1.94
VIII	2.24	2.20

A quantidade de microbios será representada pelo valor maximo, quando d'um valor maximo subtraímos um minimo, ou por um valor minimo quando de um minimo subtraímos um maximo.

Os numeros, resultantes da subtração dos valores maximo ou minimo da observação VIII de um valor minimo ou maximo de uma outra observação, dão respectivamente o numero maximo ou minimo de bacterios, formados no tempo correspondente ao numero de minutos obtidos pela subtração do numero de 105, — tempo total da experienca de minutos decorridos do inicio da experienca, até a observação que se estuda. São

Dies sind die Totalzahlen der Colonien und ihr Durchschnittsfehler in jeder Beobachtung; da es richtiger ist und die Berechnungen vereinfacht, schreibe ich nur die drei ersten Zahlen, indem ich die Tausende durch einen Punkt abtrenne:

Beobachtung	Totalzahl der Colonien und wahrscheinlicher Fehler
I	1.64 ± 0,05
II	1.72 ± 0,05
III	1.87 ± 0,06
IV	1.97 ± 0,05
V	2.03 ± 0,05
VI	2.10 ± 0,04
VII	2.25 ± 0,31
VIII	2.22 ± 0,02

Von den obigen Werten kann man die Zahl der während der Versuchphasen gebildeten Keime abziehen. Das Schwanken der Versuchsfehler - nach plus und minus macht, dass wir für jedes Experiment einen Maximal- und einen Minimalwert haben:

Beobachtung	Max.	Min.
I	1.69	1.79
II	1.66	1.58
III	1.93	1.81
IV	2.02	1.92
V	2.08	1.98
VI	2.14	2.06
VII	2.56	1.94
VIII	2.24	2.20

Die Anzahl der Keime wird durch einen Maximalwert repräsentiert, wenn wir von einem Maximalwert ein Minimum oder durch einen Minimalwert, wenn wir einem Minimum ein Maximum subtrahieren.

Die Zahlen, welche aus der Subtraction der Minimal- und Maximalwerte einer anderen Beobachtung von den Maximal- und Minimalwerten der Beobachtung VIII erhalten werden, geben jeweilen die Maximal- und Minimalzahlen der im gegebenen Zeitraum gebildeten Bacterien; derselbe entspricht der Anzahl der Minuten, welche man durch Subtraction der Zahl von Minuten, welche seit Beginn des Versuches bis zu der betreffenden Beobachtung vergingen, von 105, der gesamten Ver-

estes os valores máximos e mínimos correspondentes a cada espaço de tempo:

minutos	max.	min.
105	0.65	0.51
90	0.56	0.44
75	0.43	0.27
60	0.32	0.18
45	0.26	0.12
30	0.18	0.06
15	0.30	—

Vejamos a media entre os valores máximos e mínimos de cada tempo:

minutos	media
105	0.58
90	0.50
75	0.36
60	0.25
45	0.19
30	0.12

A diferença entre 0.58 e 0.50 corresponde à quantidade de microbios formados nos 15 primeiros minutos; entre 0.58 e 0.35 nos 30 primeiros, etc., assim:

minutos	quantidade
0	0.58
15	0.50
30	0.35
45	0.25
60	0.19
75	0.12

Aplicaremos aos valores acima a formula

$$k = \frac{\log C_0 - \log C}{\delta},$$

que é a integração de $-dt/-dx = Ck$, e calculemos a constante k :

minutos	valores	$\log C_0 - \log C$	0.4343 k
0	0.58	—	—
15	0.50	0.06446	0.0430
30	0.35	0.21836	0.0728
45	0.25	0.36549	0.0812
60	0.19	0.48468	0.0808
75	0.12	0.68425	0.0912

valor medio de 0.4343 $k = 0.0738$

suchszeit, erhält. Es sind dies die Maximal- und Minimalwerte, die jedem Zeitraum entsprechen:

Minuten	Max.	Min.
105	0.65	0.51
90	0.56	0.44
75	0.43	0.27
60	0.32	0.18
45	0.26	0.12
30	0.18	0.06
15	0.30	—

Hier sind die Mittel aus den Maximal- und Minimalwerten jedes Zeitraums:

Minuten	Mittel
105	0.58
90	0.50
75	0.36
60	0.25
45	0.19
30	0.12

Der Unterschied zwischen 0.58 und 0.50 entspricht den in den 15 ersten Minuten gebildeten Keimen; der zwischen 0.58 und 0.35 den in den ersten 30 Minuten etc., also:

Minuten	Anzahl
0	0.58
15	0.50
30	0.35
45	0.25
60	0.19
75	0.12

Wenden wir die obigen Werte auf die Formel

$$k = \frac{\log C_0 - \log C}{\delta}$$

an, welche die Integrale von $-dt/-dx = Ck$ ist und berechnen wir die Constante k :

Minuten	Werte	$\log C_0 - \log C$	0.4343 k
0	0.58	—	—
15	0.50	0.06446	0.0430
10	0.35	0.21836	0.0728
45	0.25	0.36549	0.0812
60	0.19	0.48468	0.0808
75	0.12	0.68425	0.0912

Mittelwert von 0.4343 $k = 0.0738$

0.0738 microbios seria pois o numero formado por 1.64 em cada minuto, si se retirassem os novos microbios formados, á medida de sua formação, se neutralizassem as substancias nocivas existentes e se adicionassem as gastas pela vegetação.

Conhecido assim a constante de multiplicação do bacilo tifico, em caldo á temperatura de 27.0 C. vejamos qual a concordancia entre os valores encontrados nas nossas observações e os calculados com o auxilio dessa constante:

0.4343 k 0.0738	minutos	log. $C_0 - \log. C$	valores
—	0	—	0.58
—	15	0.1107	0.45
—	30	0.2214	0.35
—	45	0.3321	0.37
—	60	0.4428	0.21
—	75	0.5535	0.16
—	90	0.6642	0.12
—	105	0.7749	0.10

Damos agora no seguinte quadro, á coluna 1.^a, o numero de microbios da observação VIII e na 2.^a coluna o numero de microbios formados durante as diferentes fases da experiência. Subtraído dos valores da 1.^a coluna os seus correspondentes da 2.^a, obtemos os da 3.^a que, como já dissemos anteriormente, representará para cada observação, o numero de colonias que se deveram encontrar, cazo a concordancia entre os numeros de colonias observadas e as calculadas com o auxilio da formula das reações monomoleculares fosse completo:

$$\begin{aligned}
 2.22 - 0.50 &= 1.64 \\
 - - 0.45 &= 1.77 \\
 - - 0.35 &= 1.87 \\
 - - 0.27 &= 1.95 \\
 - - 0.21 &= 2.01 \\
 - - 0.16 &= 2.06 \\
 - - 0.12 &= 2.10 \\
 - - 0.10 &= 2.12
 \end{aligned}$$

Ainda nas tres colunas seguintes se encontram: na 1^a os valores medios de cada observação, na 2^a os calculados, na 3^a os mesmos valores aumentados ou diminuidos nos limites de seu erro medio provável, com o fim

0.0738 wäre also die Anzahl der von 1.64 in jeder Minute gebildeten Keime, wenn man die neu gebildeten, in dem Maase, wie sie entstehen, entfernen würde, unter Neutralisierung der vorhandenen schädlichen Substanzen und Ersetzung der beim Wachstum verbrauchten.

Wenn demgemäß die Constante der Vermehrung des Typhusbacillus in Nährbouillon bei 27,0° bekannt ist, vergleichen wir die in unseren Beobachtungen gefundenen Werte mit den mit Hilfe dieser Constanten berechneten:

0.434 k 0.0738	Minuten	Log. $C_0 - \log. C$	Werte
0.0738	0	—	0.58
0.0738	15	0.1107	0.45
0.0738	30	0.2214	0.35
0.0738	45	0.3321	0.37
0.0738	60	0.4428	0.21
0.0738	75	0.5535	0.16
0.0738	90	0.6642	0.12
0.0738	105	0.7749	0.10

Wir geben nun in der folgenden Tafel in der ersten Column die Anzahl der Keime der Beobachtung VIII und in der zweiten diejenige der in den Versuchsphasen gebildeten:

$$\begin{aligned}
 2.22 - 0.50 &= 1.64 \\
 2.22 - 0.45 &= 1.77 \\
 2.22 - 0.35 &= 1.87 \\
 2.22 - 0.27 &= 1.95 \\
 2.22 - 0.21 &= 2.01 \\
 2.22 - 0.16 &= 2.06 \\
 2.22 - 0.12 &= 2.10 \\
 2.22 - 0.10 &= 2.12
 \end{aligned}$$

In der nachfolgenden Tabelle findet man in der ersten Column die Mittelwerte jeder Beobachtung, in der zweiten die berechneten und in der dritten dieselben, aber innerhalb der Grenzen der wahrscheinlichen Versuchsfehler vermehrt und vermindernd, um die innerhalb der Fehlergrenzen bestehende Uebereinstimmung zwischen den berechneten und beobachteten Werten zu zeigen:

de mostrar a concordancia dentro desses limites, entre os valores calculados e observados:

observação	valores obs.	valores calc.	valores obs. e cor.
I	1.64	1.64	1.64
II	1.72	1.77	1.77
III	1.87	1.88	1.88
IV	1.97	1.95	1.95
V	2.03	2.01	2.01
VI	2.10	2.06	2.06
VII	2.25	2.10	2.25
VIII	2.22	2.12	2.20

A concordancia é completa nas 6 primeiras observações; a V porem, está já provavelmente em desacordo, pois foi necessário o maior afastamento permitido para que a concordancia fosse completa entre o valor da 2^a e 3^a colunas. Na VIII o afastamento é bastante grande. Esta discordancia deve ser atribuida á formação de novos microbios, dotados, como os primeiros, da facultade de reprodução, capazes de compensarem, por esta razão, o decrecimento das substancias nutritivas, no meio de cultura.

Devemos, pois, á serie de analogias que RAULIN indicou, entre a formação dos vegetais e a dos compostos não organizados acrecentar a seguinte:

A formação de certos vegetais microscópicos se faz segundo a mesma lei que rege a dos compostos não organizados (Lei de GULDBERG-WAAGE).

	Beobachtung	Beob. Werte	Berechn. Werte	Beob. und corr. Werte
	I	1.64	1.64	1.64
	II	1.72	1.77	1.77
	III	1.87	1.88	1.88
	IV	1.97	1.95	1.95
	V	2.03	2.01	2.01
	VI	2.10	2.06	2.06
	VII	2.25	2.10	2.25
	VIII	2.22	2.12	2.20

In den ersten 6 Beobachtungen ist die Uebereinstimmung eine vollständige; die fünfte jedoch stimmt wahrscheinlich bereits nicht mehr überein, da die grösste Abweichung nötig war, um die völlige Uebereinstimmung zwischen den Werten der zweiten und dritten Columne herbeizuführen. In Beobachtung VII und VIII ist die Abweichung ziemlich gross. Dieselbe muss der Bildung neuer Keime zugeschrieben werden, welche, wie die ersten, reproductionsfähig sind und deshalb die Abnahme der Nährsubstanzen in dem Culturmedium compensiren können.

Wir müssen daher der Reihe von Analogien, welche RAULIN zwischen der Bildung pflanzlicher Zellen und derjenigen unorganischer Verbindungen angegeben hat, die Folgende hinzufügen:

Die Bildung gewisser mikroskopischer Pflanzen geht nach demselben Gesetze vor sich, welches die nicht organisierten Körper regiert (Gesetz von GULDBERG-WAAGE).